

**Untersuchung des Kondensationsmechanismus
von Osonen an Hand der Modellverbindungen
Methylglyoxal und 2.3-Butandion als
Beitrag zur Kenntnis der Maillard-Reaktion**

Thomas Wieland

1972

UNTERSUCHUNG DES KONDENSATIONSMECHANISMUS
VON OSONEN ANHAND DER MODELLVERBINDUNGEN
METHYLGLYOXAL UND 2.3-BUTANDION ALS BEI-
TRAG ZUR KENNTNIS DER MAILLARD-REAKTION.

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Thomas Wieland
aus Schopfheim

München 1972

Berichterstatter: Prof. Dr. Th. Severin

Mitberichterstatter: Prof. Dr. F. Eiden

Tag der mündlichen Prüfung: 20.12.1972



Meinen lieben Eltern

Diese Arbeit wurde im Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Ludwig-Maximilians-Universität München auf Anregung und unter Anleitung von

Herrn Professor Dr. Theodor Severin

angefertigt.

Für die großzügige Förderung und stets wohlwollende Unterstützung der vorliegenden Arbeit möchte ich Herrn Prof. Severin meinen herzlichen Dank aussprechen.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Theoretischer Teil	
1. Einleitung	1
2. Umsetzungen von Methylglyoxal mit Methylammonium- acetat	15
3. Umsetzungen von 2.3-Butandion mit Methylammonium- acetat	35
4. Versuche zur Synthese niedermolekularer Methylglyoxal- Kondensationsprodukte	40
5. Zusammenfassung	47
6. Literaturverzeichnis	49
II. Experimenteller Teil	
1. Umsetzungen von Methylglyoxal mit Methylammonium- acetat	54
2. Umsetzungen von 2.3.-Butandion mit Methylammonium- acetat	63
3. Versuche zur Synthese niedermolekularer Methylglyoxal- Kondensationsprodukte	67

Theoretischer Teil

Einleitung

In der organischen Chemie, wie auch in der Lebensmittelchemie, ist die Bildung brauner Pigmente eine weitverbreitete Erscheinung. Die heute in der Lebensmittelchemie übliche Bezeichnung "Maillard-Reaktion" geht auf L.C. Maillard¹⁾ zurück, der im Jahre 1912 das Auftreten einer Braunfärbung beschrieb, die beim Erwärmen einer Lösung von Zuckern und Aminosäuren auftrat. In der Folgezeit konnte festgestellt werden, daß Zucker auch unter dem katalytischen Einfluß von Säuren oder Basen braune Pigmente bilden können²⁾, sodaß sich der Überbegriff "nichtenzymatische Bräunung" durchsetzte. Man unterscheidet damit von der enzymatischen Oxydation der Aminosäuren und Polyphenole, die ebenfalls zu braunen Produkten führen kann. Für den Lebensmittelchemiker ist diese "nichtenzymatische Bräunung" von großem technologischen Interesse. Es sei in diesem Zusammenhang an das Entstehen brauner Substanzen beim Rösten, Braten und Backen oder auch beim Bierbrauen erinnert, sowie an unerwünschte Verfärbungen von Lebensmitteln bei der Lagerung.

Infolgedessen setzte auf diesem Gebiet eine umfangreiche Forschung ein, die sich zunächst mit dem Einfluß der Reaktionsbedingungen auf die Melanoidinbildung auseinandersetzte. So wurde die Abhängigkeit von der Temperatur Gegenstand eingehender Untersuchungen. Dabei stellten mehrere Autoren³⁾ fest, daß der Anteil an braunem Substrat mit steigender Temperatur zunimmt, gleichzeitig wird jedoch auch auf unterschiedliche Eigenschaften der entstehenden Pigmente hingewiesen. Mit der Abhängigkeit vom pH-Wert beschäftigten sich H. Borsook und H. Wasteneys⁴⁾. Sie setzten Glukose und Glycin in verschiedenen Phosphat-Puffern um. Dabei wurde bei steigendem pH-Wert eine raschere Abnahme der Aminogruppen festgestellt. Andere Autoren⁵⁾ bestätigten diese Ergebnisse. In Bezug auf den Wassergehalt konnten M.L. Wolfrom und C.S. Roney⁶⁾ bei 30% ein Optimum für die Maillard-Reaktion experimentell nachweisen. Im wasserfreien Medium sowie bei einem Wassergehalt von über 90% wurde bei niedrigen Temperaturen keine Bräunung beobachtet. Ähnliche Aufzeichnungen finden sich auch bei H. Kato⁷⁾.

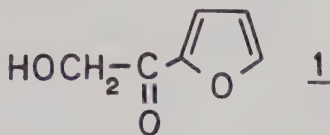
Zweifelloos ist für die Lebensmitteltechnologie auch die katalytische Wirkung von Metallen in Bezug auf die nichtenzymatische Bräunung von Interesse. H. Fraenkel-Conrat und Mitarbeiter⁸⁾ konnten bei Gegenwart von Kupferionen eine gesteigerte Bräunungsgeschwindigkeit erzielen. Andere Autoren⁹⁾ erreichten durch Zugabe von Eisensalzen den selben Effekt, während in Gegenwart von Manganionen¹⁰⁾ eine deutliche Reaktionshemmung festgestellt wurde.

Die Reaktivität verschiedener Zucker und Aminosäuren bezüglich der Maillard-Reaktion wurde eingehend untersucht. So stellt L.C. Maillard¹⁾ eine abnehmende Reaktivität von Pentosen über Hexosen zu den Disacchariden fest, was weitere Autoren¹¹⁾ bestätigten.

Aminosäuren zeigen mit steigender Basizität eine wesentlich erhöhte Reaktivität, wie H.H. Beachmann und M.F. Dull¹²⁾ experimentell nachgewiesen haben.

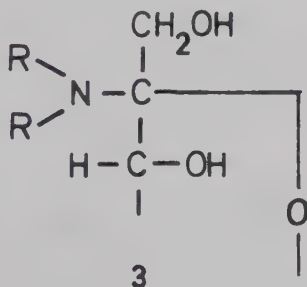
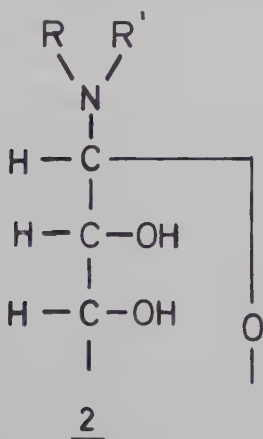
Es fehlte auch nicht an Versuchen, die entstehenden Pigmente abzutrennen, um Aussagen über ihre Struktur machen zu können. So isolierte bereits L.C. Maillard¹³⁾ aus dem Reaktionsgemisch von Glukose und Glycin ein wasserlösliches Pigment, dessen Bruttoformel er angab. Später wurden aufgrund unterschiedlicher Löslichkeit in Wasser sowie auch mittels Dialyse¹⁴⁾ Abtrennungen versucht, die jedoch zu sehr unterschiedlichen Bruttoformeln führten. In jüngerer Zeit versuchte T. M. Reynolds¹⁵⁾ Trennungen mit Dextrangelen. Von den dabei isolierten Pigmenten wurden Infrarot- und Ultraviolett-Spektren aufgenommen. Im IR-Bereich zeigten sich ausgeprägte Hydroxyl-, Carbonyl- und Kohlenstoff-Doppelbindungsbanden. Im UV-Bereich wurde Absorption bei 290 und 270 m μ festgestellt. Weitere Untersuchungen unternahm der Autor jedoch nicht. Mittels Viskositätsmessungen kamen H.D. Cremer und E. Menden¹⁶⁾ zu der Vorstellung, daß es sich bei den beschriebenen braunen Pigmenten um langgestreckte Fadenmoleküle handeln muß. Auch diese Feststellung ist recht allgemeiner Natur und wurde nicht weiter verfolgt. Vor kurzem versuchten K. Heyns und E. Hauber¹⁷⁾ durch thermische Fragmentierung ¹⁴C-markierter Sorbosebräunungspolymerisate und radiogaschromatischer Identifizierung der Pyrolyseprodukte Aufklärung über die

Struktur der Makromoleküle zu erhalten. Die Auffindung von 2-Hydroxyacetyl-furan (1) führte zur Postulierung einer Struktur, die auf der Polykondensation dieser Substanz beruht.



Alle diese z. T. sehr unterschiedlichen Beobachtungen führen zu keinem eindeutigen Ergebnis. Man darf jedoch aufgrund der genannten Veröffentlichungen annehmen, daß es sich bei den Melanoidinen um langgestreckte Makromoleküle mit Hydroxyl-, Carbonyl- und Kohlenstoff-Doppelbindungen handelt, die auch aromatische Verbindungen im Molekülverband enthalten.

Von großem Interesse ist der Bildungsmechanismus der Melanoidine. Es liegt nahe, als Primärreaktion eine Kondensation zwischen der Aminogruppe der Aminosäure und der Carbonylfunktion des Zuckers anzusehen. In der Tat konnten derartige primäre Kondensationsprodukte, nämlich Aldosylamine (2)¹⁸⁾ und Ketosylamine (3) isoliert werden.



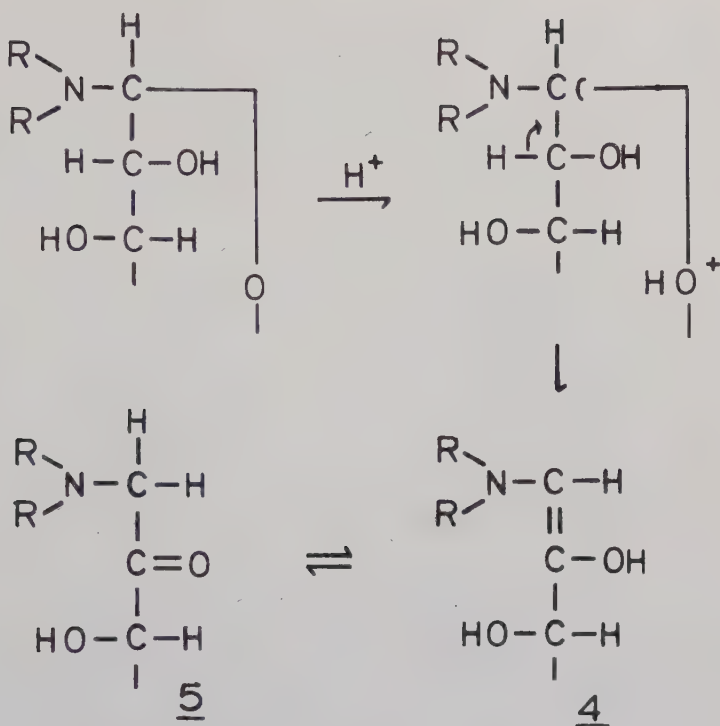
Einige dieser Verbindungen einfacher Amine mit Zuckern konnten kristallin gefaßt werden, während die entsprechenden Kondensate mit Aminosäuren nur als Salze oder in Form ihrer Ester zugänglich sind. Unter geeigneten Reaktionsbedingungen bilden primäre Amine oder Aminosäuren auch Dialdosylamine¹⁹⁾, von denen einige beschrieben wurden.

Aldosylamine unterliegen bei Säurekatalyse rasch der Amadori-Umlagerung, wobei die entsprechenden 1-Desoxy-1-amino-ketosen entstehen. Entsprechend verhalten sich Ketosylamine, die durch die Heyns-Carson-Umlagerung²⁰⁾ in 2-Desoxy-2-amino-aldosen übergehen. In der Literatur²¹⁾ findet man zahlreiche derartige Verbindungen, deren Synthesen beschrieben sind, z. T. wurden sie auch in Naturprodukten, wie z. B. in der Leber²²⁾ aufgefunden. Es fehlt nicht an Versuchen einen geeigneten Mechanismus für die Amadori-Umlagerung zu formulieren. So wurde für die protonenkatalysierte Reaktion von A. Gottschalk²³⁾ ein Protonenangriff am Ringsauerstoffatom vorgeschlagen. Anschließend Ringöffnung führt über das Aminoenol (4) mit anschließender Tautomerisierung zur 1-Amino-1-desoxy-ketose (5). (Schema 1).

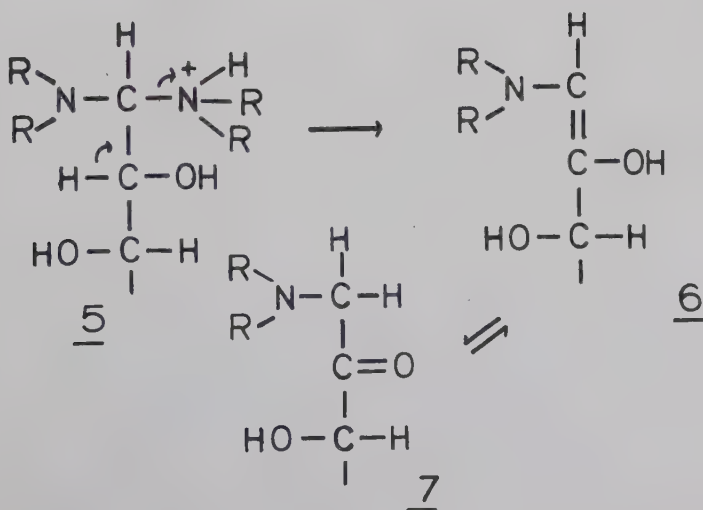
Die Tatsache, daß die schwer hydrolysierbaren reinen aromatischen Amine wenig Neigung zur Amadori-Umlagerung zeigen, jedoch nach Zugabe geringer Mengen aliphatischer Amine rasch 1-Desoxy-1-amino-ketosen bilden, veranlaßten F. Micheel und J. Dijong²⁴⁾ zu der Annahme, daß als Zwischenprodukte protonierte 1.1-Bisamino-Zucker (5) auftreten müssen. Anhand von Versuchen mit p-Toluidin-Zucker Derivaten konnte diese Vermutung bestätigt werden. Der protonierte Bis-amino-Zucker (5) verliert unter Bildung eines Carboniumions eine Aminfunktion und kann sich über das Aminoenol (6) zur 1-Desoxy-1-amino-aldose (7) umsetzen.

SCHEMA 1:

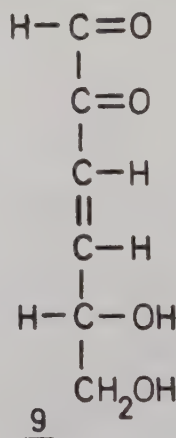
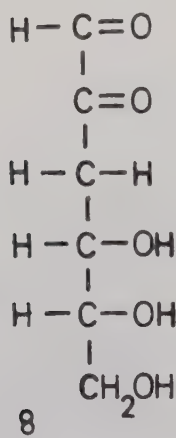
- 5 -



SCHEMA 2:

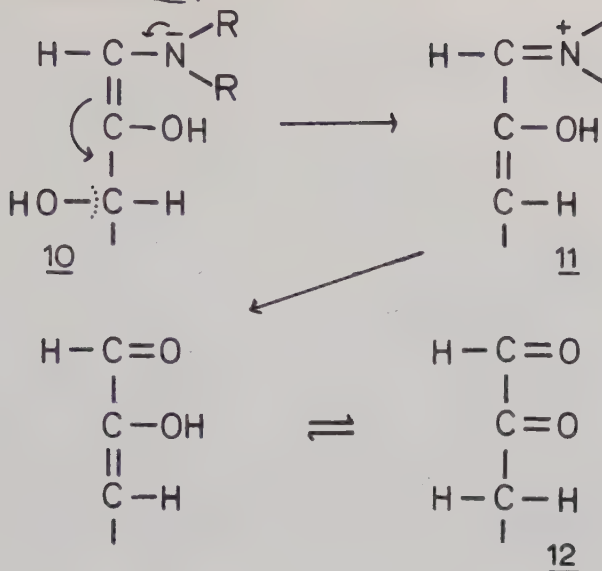


Anet²⁵⁾ entdeckte, daß Diglukosylamine sich in wässriger Lösung rasch zersetzen, wobei das entsprechende Ketosamin und eine Reihe neutraler Carbonylverbindungen entstehen. Die Auftrennung dieser Carbonylverbindungen an Cellulosesäulen ergab als Hauptkomponente das 3-Desoxy-1.2-glukoson (8), des weiteren konnte 3.4-Didesoxy-1.2-glukoson-3-en (9) identifiziert werden.



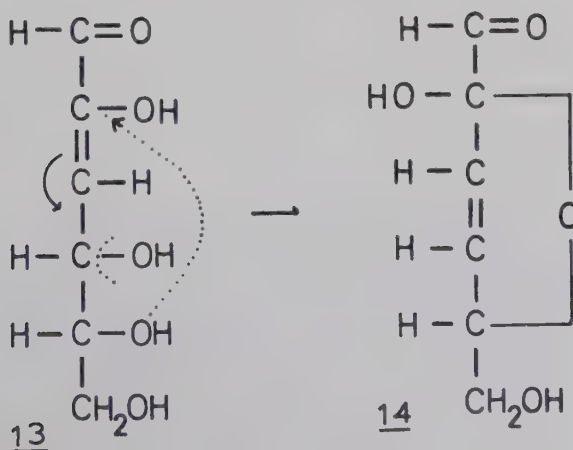
Für die Bildung dieser Diketone stellen H.S. Isbell und H.L. Frush²⁶⁾ folgenden Mechanismus auf: Unter der Elektronendonator-Wirkung des C₁-Stickstoffes kann das in der Enolform vorliegende Ketosamin unter Verschiebung der C=C-Bindung am C₃-Atom ein Hydroxylion abspalten (10). Das dabei entstehende Produkt (11) kann sich nach Tautomerisierung und Aminabspaltung zum 3-Desoxy-1.2-osen (12) umsetzen. (Schema 3).

SCHEMA 3:



Das Enol des 3-Desoxy-1.2-glukoson's (13) kann auch nach Tautomerisierung und nach Verschiebung der C_2-C_3 -Doppelbindung unter Abspaltung des Hydroxylions am C_4 -Atom zum 3.4-Didesoxy-3.1-glukoson-3-en (14) weiterreagieren. Die am C_2 -Atom entstehende Elektronenlücke wird dabei durch Halbacetalbildung mit der C_5 -Hydroxylgruppe aufgefüllt. (Schema 4).

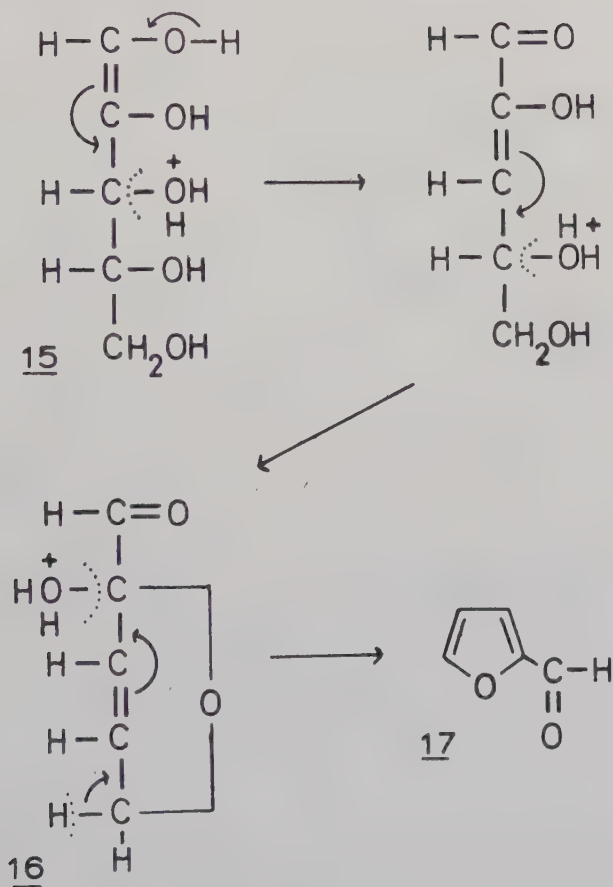
SCHEMA 4:



In der Folgezeit wurde eine Reihe von Osonen beschrieben, insbesondere von H. Kato und Mitarbeitern²⁷⁾, die durch Säurespaltung von 1-Desoxy-1-ketosyl-aminen und anschließende Reinigung an Cellulosesäulen die betreffenden Osonen erhalten konnten. In einer neueren Veröffentlichung wird ein breit anwendbares Verfahren beschrieben, das eine einfache 3-Desoxy-1.2-ose-Darstellung aus dem jeweiligen Zucker ermöglicht. Die Autoren²⁸⁾ setzen dabei Zucker zu ihren Bis-benzoyl-hydrazonen um, die anschließend mit Benzaldehyd gespalten werden. Nach Reinigung an Ionenaustauschern werden die betreffenden 3-Desoxy-ose in relativ günstiger Ausbeute erhalten. 3-Desoxy-ose sind in jüngster Zeit auch in Lebensmitteln nachgewiesen worden. So fanden H. Kato²⁹⁾ und Mitarbeiter das 3-Desoxy-1.2-glukoson in Sojasauce und Miso (Sojawürze), die Abtrennung erfolgte über das betreffende Dinitrophenylhydrazon. Andere Veröffentlichungen berichten über die Isolierung von 3-Desoxy-1.2-osen aus Rinderlebern³⁰⁾.

Die Bildung von Osonen konnte auch in Abwesenheit von Aminen beobachtet werden. Für die unter Säurekatalyse verlaufende großtechnische 2-Furaldehyd-Synthese aus Pentosen wurde von M. L. Wolfrom³¹⁾ und Mitarbeitern, wie auch von H. S. Isbell³²⁾ folgender Mechanismus formuliert: Unter Protoneinfluß wird die Enolisierung des Zuckers begünstigt. Die protonierte Hydroxylgruppe am C_3 -Atom kann unter Verschiebung der Doppelbindung zum C_2/C_3 -Atom austreten. Gleichzeitig erfolgt Protonenabspaltung an der C_1 -Hydroxylgruppe. Analog verläuft die Hydroxylabspaltung am C_4 -Atom, wobei die am C_2 -Atom entstehende Elektronenlücke durch Halbacetatbildung unter Ringschluß vom C_5 - zum C_2 -Atom geschlossen werden kann. Abspaltung der C_2 -Hydroxylfunktion und Protonenaustritt am C_5 -Atom führen zum Furaldehyd (Schema 5).

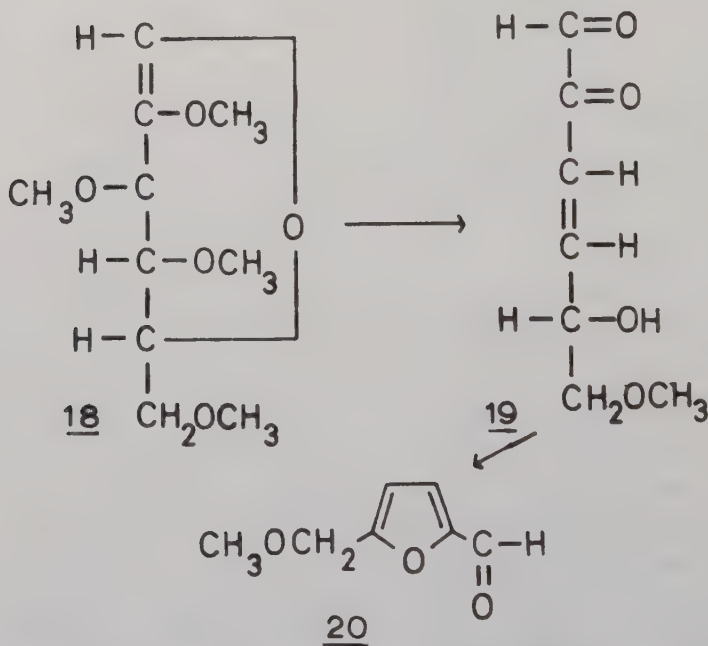
SCHEMA 5:



Bei der Bildung des 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd aus Hexosen konnte Anet³³⁾ ein 3-Desoxy-1.2-hexoson in Form des Dinitro-phenylosazons isolieren und identifizieren, was als Beweis für diesen zitierten Mechanismus der Furaldehydbildung gewertet werden darf.

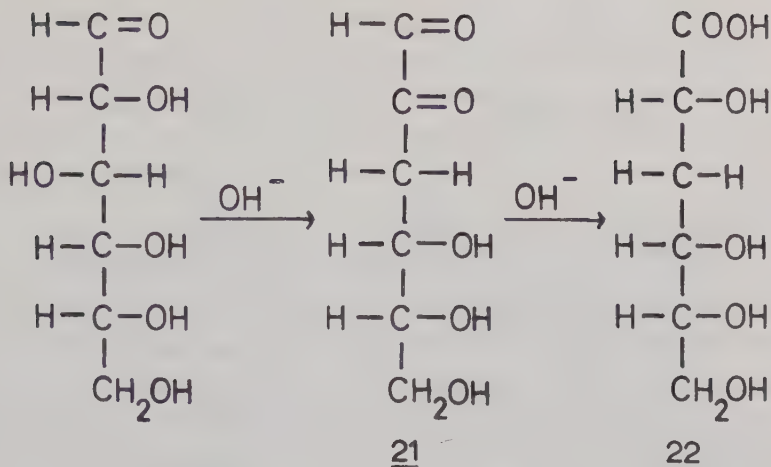
M.L. Wolfrom und E.G. Wallace³⁴⁾ konnten bei der säurekatalysierten Umsetzung des 2.3.4.6-Tetramethyl-glukose-1-ens zum 5-(Methoxymethyl)-furanaldehyd-(2) (20) das Phenylsazon des 3.4-Desoxy-6-(o-methyl)-1.2-hexoson-3-ens (19) identifizieren (Schema 6).

SCHEMA 6:



Beide experimentellen Befunde zeigen, daß auch unter Säurekatalyse sowohl gesättigte wie ungesättigte Osone gebildet werden können.

Für die Bildung von Metasaccharinsäuren (22) aus reduzierenden Zuckern unter Alkalieinfluß formulierte I.U. Nef³⁵⁾ als Zwischenprodukt ein 3-Desoxy-1.2-hexoson (21).



G. Machell und G.N. Richards³⁶⁾ konnten den experimentellen Beweis durch Isolierung dieses 3-Desoxy-osons aus dem Reaktionsgemisch führen.

In jüngster Zeit zeigten H. Sugisawa und K. Sudo³⁷⁾ die Bildung gesättigter Ozone durch thermischen Abbau von Glukose im neutralen Medium in Abwesenheit von Katalysatoren. Die Autoren erhitzen Glukose einige Zeit auf 150° und konnten u.a. D-Arabinohexoson, 3-Desoxy-D-erythrohexoson und 3.4-Didesoxyhexoson in Form ihrer Dinitrophenylhydrazone identifizieren.

Die Isolierung von 2.3-Osonen ist bisher nicht gelungen. Diese Verbindungen müssen jedoch als Zwischenprodukte einiger Zuckerabbauprodukte angenommen werden. So läßt sich für die Bildung von Hydroxyacetylfuran (27) folgender Mechanismus formulieren: Als erster Schritt kann eine 2.3-Enolisierung erfolgen (23), wodurch Austritt der Hydroxylfunktion am C₄-Atom begünstigt wird. Das entstehende 4-Desoxy-enol (24) steht mit dem hypothetischen 4-Desoxy-2.3-ozon (25) im Gleichgewicht. Analog zur Furanaldehydbildung ist nun unter Halbacetalbildung von C₆- zum C₃-Atom eine weitere Hydroxylabspaltung möglich, wobei als Zwischenprodukt ein 4.5-Dideoxy-2.3-hexoson-4-en (26) angenommen werden kann. Weiterer Wasseraustritt führt schließlich zum Hydroxyacetylfuran (27) (Schema 7).

Wie am Beispiel des Furanaldehyd bereits angeführt, werden Ozone als Zwischenstufe für die Bildung niedermolekularer flüchtiger Substanzen angesehen, denen heute eine wichtige Rolle als Aromaträger beigemessen wird. Das technologische Interesse hieran bedingte eine umfangreiche Forschung, die zur Auffindung zahlreicher Substanzen führte.

Umfassende Arbeiten finden sich bei P.E. Shaw³⁸⁾, J.H. Tatum und Mitarbeitern, die Fruktose säure- und basenkatalysiert abbauten und die entstehenden Produkte mittels Dünnschicht- und Gaschromatographie isolierten und identifizierten. Beim säurekatalysierten Fruktoseabbau fanden die Autoren neben C_2 - und C_3 -Körpern das Angelikalakton, verschiedene Furanaldehyde, Isomaltol, Acetylformoin, Hydroxyacetylfuran und einen Furanonkörper.

Beim basenkatalysierten Fruktoseabbau gelang die Identifizierung von insgesamt 18 Substanzen: Einige C_3 - und C_4 -Verbindungen, zwei Furanaldehyde, zwei Furanone, vier Cyclopentanone sowie Benzoesäure.

Aus dem Modellsystem D-Glukose und Methylammoniumacetat gelang G. Jurch und J.H. Tatum³⁹⁾ die Isolierung von insgesamt 13 Verbindungen, darunter Furanaldehyde, Furanone, Pyrrole, Pyrrolaldehyde sowie Pyranone.

Die Bedeutung der Ozone wurde einerseits als Zwischenstufe bei der Bildung flüchtiger Zuckerabbau-Produkte erkannt, die als Aromaträger Bedeutung haben, andererseits sind sie auch für die Melanoidinbildung als Ausgangsprodukte anzusehen.

H. Kato⁴⁰⁾ und Mitarbeiter untersuchten die Bräunungsgeschwindigkeit von Sojasauce einmal nach Zugabe einzelner Zucker sowie auch nach Zugabe der betreffenden Ozone. In Gegenwart von Osonen konnte eine merklich gesteigerte Reaktionsgeschwindigkeit festgestellt werden. Die Autoren schließen daraus, daß Ozone als Zwischenprodukte bei der Melanoidinbildung auftreten müssen. Zudem konnten sie ein wasserlösliches Pigment isolieren. Nach Zugabe von Hydroxymethylfurfurol konnte ein ähnliches Pigment in jedoch wesentlich geringerer Ausbeute erhalten werden.

Wie schon L.C. Maillard¹⁾ beobachtete, wird bei diesen Bräunungsreaktionen zwischen Aminosäuren und Zuckern stets CO_2 frei. Es liegt nahe, für diese

CO_2 -Bildung eine oxidative Desaminierung mit α -Dicarbonylverbindungen anzunehmen. In der Tat konnte J.S. Cole⁴¹⁾ nachweisen, daß die CO_2 -Entwicklung proportional zur Menge der entstehenden braunen Pigmente und proportional zur Bildung von ungesättigten Dicarbonylverbindungen ist. Der Autor stellte auch fest, daß ein Teil der CO_2 -Bildung auf einem anderen, bisher ungeklärten Wege erfolgen muß.

Über den Bildungsmechanismus brauner Polymere aus Osonen ist bisher nicht gearbeitet worden. Man kann beim Strecken-Abbau der Aminosäuren durch α -Dicarbonylverbindungen die Entstehung reaktiver Enamine und Aldehyde annehmen, welche sich untereinander oder mit anderen Zuckerumwandlungsprodukten zu Melanoidinen umsetzen können. Wichtiger ist jedoch die Reaktion der Ozone miteinander, die zu diesen Polymeren führen wird. Hierfür spricht vor allem die Tatsache, daß α -Dicarbonylverbindungen eine ausgeprägte Neigung zur Selbstkondensation zeigen. Diese Reaktivität unterliegt zudem dem katalytischen Einfluß von Aminen, wobei es zu einer raschen Melanoidinbildung kommt, wie C. Enders⁴²⁾ und Mitarbeiter anhand von Modellsubstanzen nachweisen konnten.

So ist es in diesem Zusammenhang interessant, einmal den Kondensationsmechanismus der α -Dicarbonylverbindungen in Erfahrung zu bringen, zum anderen ist auch der eventuelle Einbau der Aminkomponente in das Melanoidingerüst zu untersuchen. Möglicherweise kann eine experimentelle Lösung dieser Fragen durch Isolierung und Identifizierung von niedermolekularen Reaktionsprodukten erfolgen. Die schwierige präparative Zugänglichkeit von Osonen läßt es zweckmäßig erscheinen, zu einfacheren Modellverbindungen zu greifen.

Für 3-Desoxy-1.2-Ozone bietet sich das Methylglyoxal als einfachste Modellsubstanz an, während für die erwähnten hypothetischen 4-Desoxy-2.3-Ozone das 2.3-Butandion als geeignet erscheint. Es wurde zur Aufgabe der vorliegenden Arbeit, diese beiden Verbindungen mit einer Aminkomponente umzusetzen und niedermolekulare Reaktionsprodukte abzufangen. Daraus sollen Rückschlüsse einmal auf den Kondensationsmechanismus zum anderen auf den Einbau der Aminkomponente gezogen werden.

Umsetzungen von Methylglyoxal mit Methylammoniumacetat.

Methylglyoxal wurde erstmalig von H. v. Pechmann⁴³⁾ durch Spaltung von Isonitrosoaceton mit verdünnter Schwefelsäure erhalten. Moderne technische Darstellungen beruhen heute auf der Oxydation von Propylen oder Aceton mit Selenioxyd⁴⁴⁾.

Methylglyoxal neigt zu rascher Dimerisierung und Selbstkondensation⁴⁵⁾. Bekannt sind das dimere und auch das trimere Methylglyoxal. Beim Stehenlassen an der Luft erstarrt Methylglyoxal zu einer harten glasigen Masse. So empfiehlt es sich, für Arbeiten im Labormaßstab das Methylglyoxal durch Säurespaltung des gut haltbaren Diacetals nach einem von J. Meisenheimer⁴⁶⁾ beschriebenen Verfahren frisch herzustellen.

Methylglyoxal ist in Lebensmitteln weit verbreitet. So wird es als Aromakomponente des frischen und bereits gelagerten Brotes⁴⁷⁾ angesehen; man fand es auch im Karamellaroma⁴⁸⁾, in Bier und Bierhefe⁴⁹⁾. In jüngster Zeit wurde es bei der Autoxidation von Fetten⁵⁰⁾ beobachtet. Nach Untersuchungen von A. Ruiter⁵¹⁾ kommt dem Methylglyoxal, das auch im Holzrauch auftritt, beim Räuchern Bedeutung zu. Der Autor nimmt als Primärreaktion eine Kondensation zwischen den freien Aminogruppen des Lysins und dem Methylglyoxal an. Er konnte eine beträchtliche Abnahme der freien Aminogruppen an der Oberfläche des Räuchergutes nachweisen. Eine wichtige Rolle spielt das Methylglyoxal beim Abbau der Zucker. Es wurde nach Einwirkung von Ammoniak auf Arabinose und Xylose aufgefunden⁵²⁾, wie auch bei der Destillation von Glukose in verdünnter Soda- oder Bicarbonatlösung⁵³⁾. Methylglyoxalbildung erfolgt auch bei der Destillation saurer oder neutraler Zuckerlösungen⁵⁴⁾ sowie beim Behandeln von Glukose mit geeigneten Oxydationsmitteln⁵⁵⁾. Unter bestimmten Versuchsbedingungen - langanhaltende, volumenkonstante Destillation - gelingt es, Zucker nahezu vollständig in Methylglyoxal und verwandte Verbindungen überzuführen⁵⁶⁾.

Die Tatsache, daß derartige C₃-Carbonylkörper unter sauren, neutralen wie auch alkalischen Bedingungen aus Zuckern entstehen, veranlassten C. Enders⁵⁷⁾ dazu, diese Verbindungen hinsichtlich ihres Melanoidinbildungsvermögens mit

Zuckern zu vergleichen. Der Autor stellte bei Methylglyoxal, Glycerinaldehyd und 2.3-Butandion eine im Vergleich zu Zuckern um ein Vielfaches gesteigerte Reaktionsgeschwindigkeit fest. C. Enders und B. Marquardt⁵⁸⁾ konnten zeigen, daß die Melanoidinreaktion in Gegenwart des Carbonylreagenzes Dimedon, das bekanntlich mit Zuckern nicht reagiert, unterbleibt. Diese Erfahrung veranlaßte die Autoren, Methylglyoxal und verwandte Verbindungen als "treibendes Agens" bei der Bildung brauner Polymere aufzufassen. Nachdem nun die wichtige Rolle des Methylglyoxals bei der Melanoidinbildung erkannt war, versuchte man den Bildungsmechanismus zu untersuchen. C. Enders und S. Sigurdson⁵⁹⁾ nehmen als ersten Schritt eine Verknüpfung der Carbonylverbindungen im Sinne einer Aldoladdition an, eine Reaktion, die bekanntlich durch Amine beschleunigt wird. Als indirekten Beweis für diese Behauptung werten die Autoren in ihrem Versuch die Abnahme der Carbonylgruppen in einem wässrigen Methylglyoxal-Glykokoll System, welches sie längere Zeit bei Raumtemperatur beließen. Über den Weitergang der Reaktion, wie auch den möglichen Einbau von Aminen in das Melanoidingerüst machen die Autoren keine Aussage.

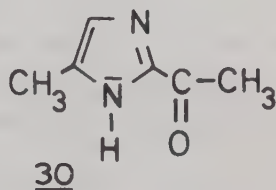
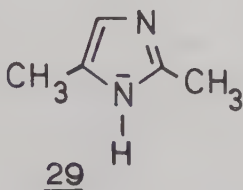
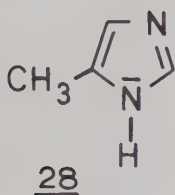
Der Einfluß von Mineralsäuren wurde von mehreren Autoren⁶⁰⁾ untersucht. Übereinstimmend wurde dabei die Bildung brauner Substrate beschrieben, die die Eigenschaften von Huminsäuren aufweisen. Ähnliche Substanzen wurden auch bei der Reaktion mit Aminen und Aminosäuren beobachtet und zum Teil abgetrennt. Einige Autoren geben auch Bruttoformeln an.

Eingehend wurde das Verhalten von Methylglyoxal gegen Alkali⁶¹⁾ beschrieben. Es bildet sich dabei Milchsäure, unter geeigneten Bedingungen kann die Reaktion nahezu quantitativ ablaufen. Der Mechanismus für die Milchsäurebildung kann analog der Benzilsäureumlagerung formuliert werden: Das Hydroxylion greift am Aldehyd-C-Atom an, eine Hydridverschiebung vom C₁- zum C₂-Atom schließt sich an.

Bei der Reaktion mit Aminosäuren konnten C. Neuberg und M. Kobel⁶²⁾ feststellen, daß der Streckkerabbau der Aminosäuren mit Methylglyoxal schon bei Raumtemperatur vonstatten geht. Beim Erwärmen konnten die Autoren eine lebhaftere Kohlendioxydentwicklung beobachten, sowie Ammoniak und die ent-

sprechenden Aldehyde nachweisen.

M.R. Grimmet und E.J. Richards⁶³⁾ untersuchten vor einiger Zeit eingehend die Reaktion von Methylglyoxal mit Ammoniak. Die Autoren beließen das Gemisch mehrere Wochen bei Raumtemperatur, wobei eine starke Melanoidinbildung einsetzte. Es gelang mittels Säulenchromatographie vier Imidazole abzutrennen, von denen das 4(5)-Methylimidazol (28), das 2.4(5)-Dimethylimidazol (29) und das 2-Acetyl-4(5)-methylimidazol (30) identifiziert werden konnten.



Interessant ist hierbei die Feststellung, daß Methylglyoxal unter Einfluß von Ammoniak in C₁ und C₂-Bruchstücke aufgespalten wird.

Wie bereits erwähnt, kann das Methylglyoxal als Modellsubstanz für 3-Desoxy-1.2-osone angesehen werden. Darüber hinaus stellt Methylglyoxal aufgrund seines Auftretens als Zuckerabbauprodukt eine interessante Substanz bei der Maillard-Reaktion dar. Das verbreitete Vorkommen in Lebensmitteln, wie auch die starke Tendenz zur Melanoidinbildung regten dazu an, diesen Bildungsmechanismus näher zu untersuchen.

Es wurde versucht, niedermolekulare Reaktionsprodukte abzufangen, um über den Kondensationsmechanismus Aussagen machen zu können, es interessierte auch die Frage, in welcher Form die Stickstoffkomponente in das Produkt eingebaut wird. Als Aminanteil wurde mit Essigsäure neutralisiertes Methylamin verwendet. Dem Methylamin wurde als Modellsubstanz der Vorzug gegeben, da es nicht wie Aminosäuren einem Streckerabbau unterliegt. Zweifellos würden die durch den Streckerabbau zusätzlich entstehenden Verbindungen die Auswertung des Ergebnisses erschweren.

Für die im folgenden beschriebenen Versuche wurde das schlecht haltbare Methylglyoxal stets aus dem betreffenden Dimethylacetal hergestellt. Die

Säurespaltung erfolgte nach einem von J. Meisenheimer⁴⁶⁾ beschriebenen Verfahren. Zur Vereinfachung der Darstellung wurde dieses Reaktionsgemisch neutralisiert und direkt weiterverarbeitet.

In einem Versuch wurde das so gewonnene Methylglyoxal mit äquimolaren Mengen Methylammoniumacetat im wässrigen Medium kurze Zeit erhitzt. Die Mischung färbte sich sofort braun und nach kurzem Sieden schieden sich braune Krusten ab. Eine Probe wurde an einer Dünnschichtplatte chromatographiert. Durch die Vielzahl an Einzelsubstanzen erwies sich dieses Trennungsvorgehen als unzureichend. Das Umsetzungsprodukt wurde dann mit Methylenchlorid extrahiert. Auch dieser Extrakt wies sehr viele Einzelsubstanzen auf, sodaß im Hochvakuum destilliert und eine gaschromatographische Auftrennung versucht wurde. Das abgebildete Gaschromatogramm zeigt zahlreiche Peaks.

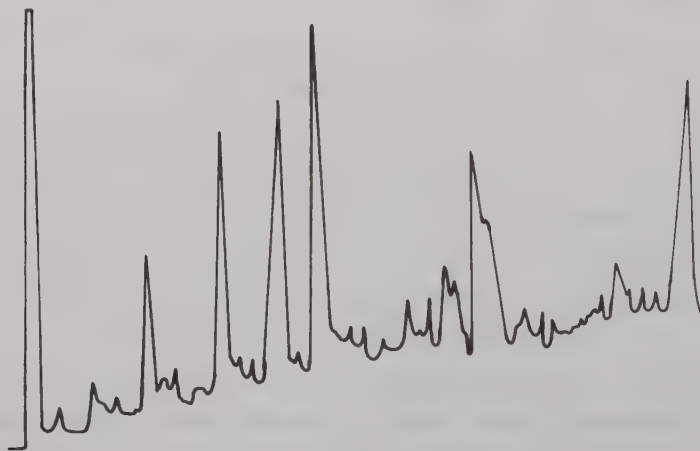


Fig. 8: Analytisches Gaschromatogramm der flüchtigen Teile des Umsetzungsgemisches Methylglyoxal/Methylammoniumacetat.
(Bedingungen im experimentellen Teil).

Zur Identifizierung der Einzelkomponenten war es erforderlich, größere Substanzmengen aufzutrennen, wobei sich die präparative Gaschromatographie

als geeignetstes Verfahren erwies. Aufgrund des stärkeren Säulendurchmessers und der größeren chromatographierten Substanzmenge erfolgt jedoch eine wesentlich schlechtere Trennung. Das abgebildete Chromatogramm weist neben dem Lösungsmittelpeak noch sechs Hauptpeaks auf, die jedoch noch keine Reinsubstanzen darstellen.

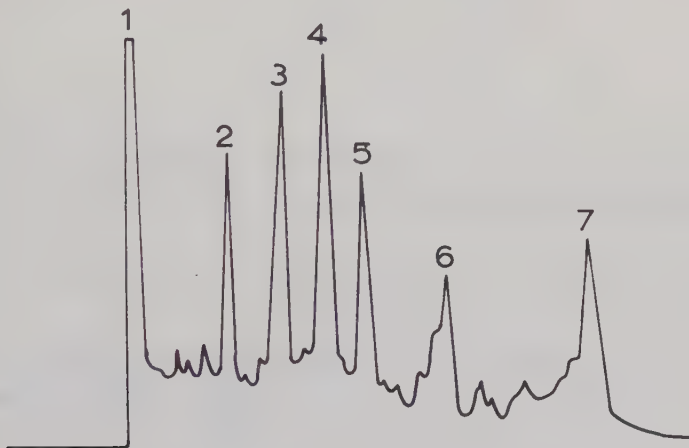


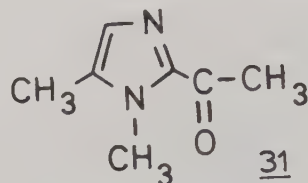
Fig. 9: Präparatives Gaschromatogramm der flüchtigen Teile des Umsetzungsgemisches Methylglyoxal/Methylammoniumacetat.

(Bedingungen im experimentellen Teil).

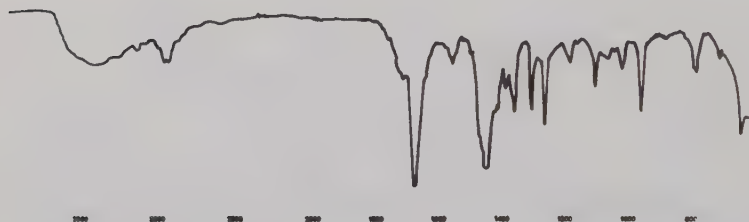
Die Substanz zu Peak Nr. 1 konnte als nicht umgesetztes Methylglyoxal aufgrund des IR-Spektrums identifiziert werden. Beim Peak Nr. 2 handelt es sich um Essigsäure, die sich noch im Reaktionsgemisch befand. Der dritte Peak wird vom Essigsäuremethyleamid hervorgerufen, er enthält noch eine nicht identifizierte Verbindung. Das Essigsäuremethyleamid wurde aufgrund der IR- und NMR-Spektren erkannt und bildet sich offenbar bei der Hochvakuumdestillation von Methylammoniumacetat.

Die Struktur der vierten Substanz wurde nach IR-, NMR-, Massenspektrum und Elementaranalyse mit 1.5-Dimethyl-2-acetyl-imidazol (31), eine bisher

nicht beschriebene Substanz, festgelegt.

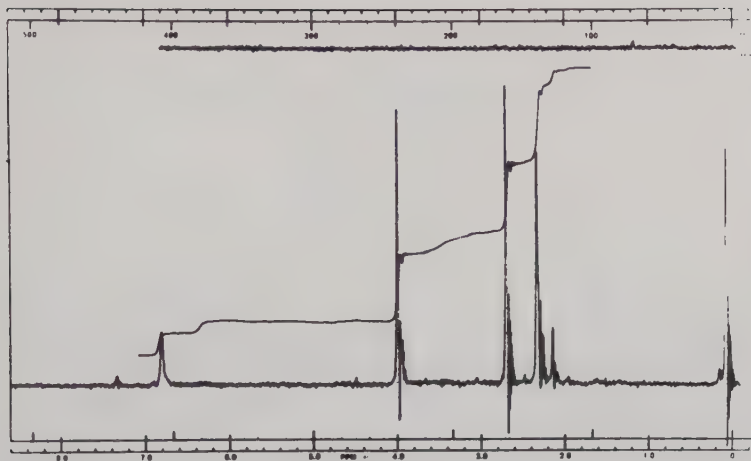


Die Carbonylschwingung im IR-Spektrum ist durch den benachbarten Imidazolring in den längerwelligen Bereich zu 1680 cm^{-1} verschoben.

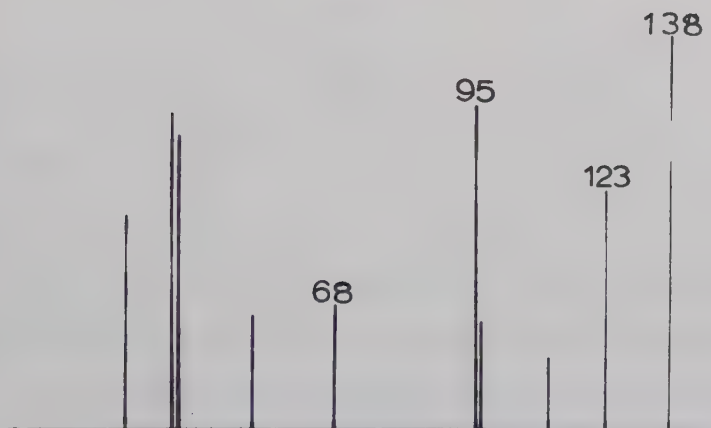


IR-Spektrum von 31 in KBr.

Das NMR-Spektrum weist das aromatische Proton bei $\tau=3.2$ auf. Die Methylgruppe am Stickstoff liegt bei $\tau=6.0$, die Methylgruppe am Ringkohlenstoff bei $\tau=7.7$ und die Methylgruppe der Acetylfunktion bei $\tau=7.3$. Das Flächenverhältnis beträgt 1:3:3:3.

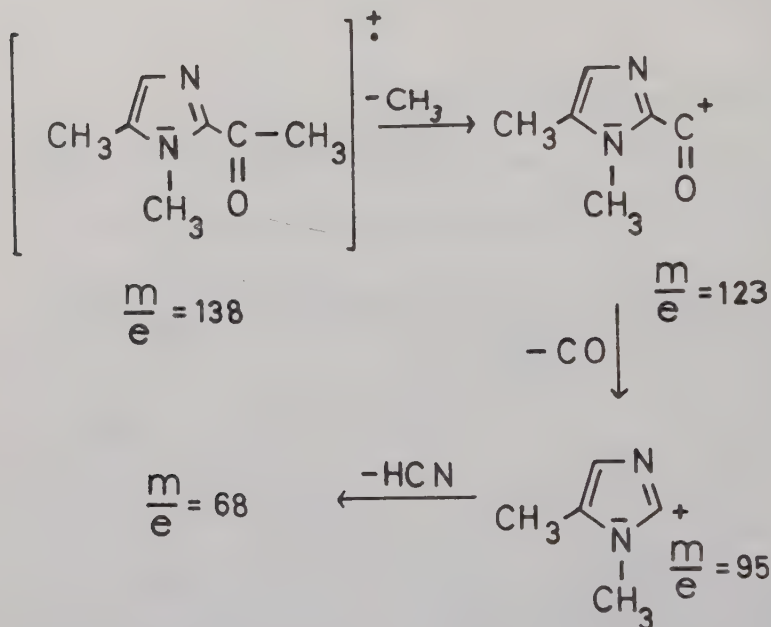


NMR-Spektrum von 31 in Deuterochloroform, TMS als innerer Standard.



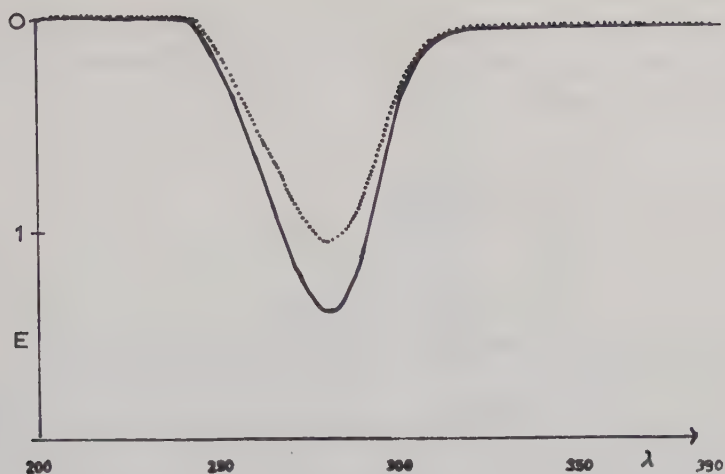
Massenspektrum von 31

Das Massenspektrum weist den Molekülpeak bei 138 auf. Abspaltung eines Methylradikals erfolgt an der Acetylgruppe, es entsteht das Kation $m/e = 123$ (60%). Abspaltung von Kohlenmonoxyd führt unter Erhaltung des Ringgerüsts zu $m/e = 95$ (80%). Es schließt sich eine HCN-Abspaltung zu $m/e = 68$ (31%) an.



Die ölige Base konnte in das kristalline Hydrochlorid übergeführt werden, wodurch eine Reinigung der Verbindung durch Umkristallisation möglich wurde.

Die Substanz ist als das 1-Methylderivat des bereits erwähnten, von M.R. Grimmer und E.J. Richards⁶³⁾ beschriebenen 2-Acetyl-4(5)-methylimidazols (30) aufzufassen. Ein Vergleich der UV-Spektren bestätigt dies.



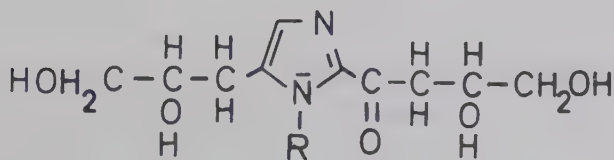
UV-Spektren von:

..... 2-Acetyl-4(5)-methylimidazol (30) in Methanol

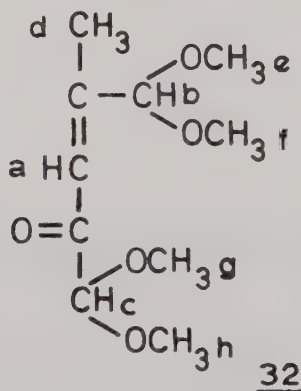
———— 2-Acetyl-1.5-dimethylimidazol (31) in Methanol

Beide Verbindungen weisen eine maximale Absorption bei 280 mμ auf.

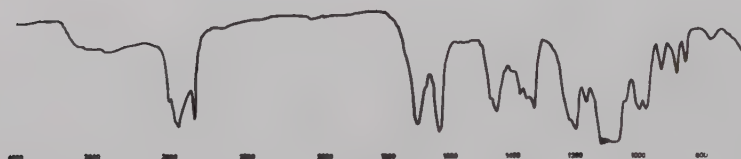
Für die Bildung von 31 sind zwei Möglichkeiten vorstellbar: Einmal kann eine C-N-Spaltung des Methylamins angenommen werden. Es ist aber auch nicht auszuschließen, daß Ammoniak als Verunreinigung des Methylamins, wenn auch nur in geringen Mengen vorhanden, zur Entstehung von 31 führt. Trotzdem ist diese Verbindung von theoretischem Interesse, man darf als Reaktionsprodukt von Aminosäuren mit Osonen ähnliche Verbindungen annehmen, da hierbei durch eine Streckerspaltung Ammoniak entsteht. So könnte z. B. bei der Reaktion eines 3-Desoxy-1.2-pentosons eine Verbindung der folgenden Struktur auftreten:



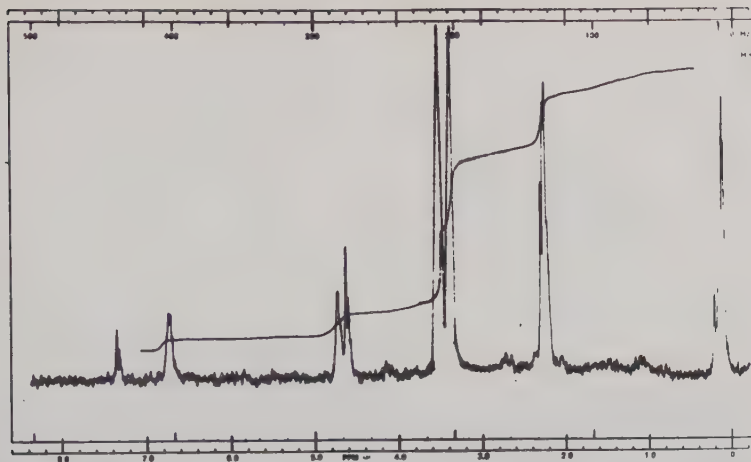
Für die als Öl auftretende fünfte Substanz wurde die Struktur 1.1,5.5-Tetramethoxy-2-methyl-penten-(2)-on-(4) (32) festgelegt. Die Substanz ist in der Literatur nicht beschrieben.



Im IR-Spektrum finden wir die Carbonylschwingung bei 1705 cm^{-1} . Diese Lage wird durch die α -ständige olefinische Doppelbindung (Verschiebung zu niedrigerer Frequenz) und die α -ständigen Methoxylgruppen (Verschiebung zu höherer Frequenz) bestimmt. Die Bande der olefinischen Doppelbindung tritt durch Konjugation mit der Carbonylschwingung stärker hervor und ist durch sie zur niedrigeren Wellenzahl (1640 cm^{-1}) verschoben.



IR-Spektrum von 32 in KBr.



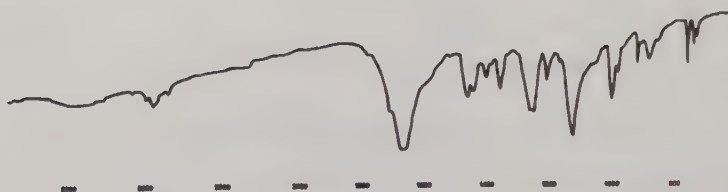
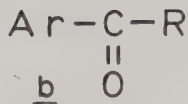
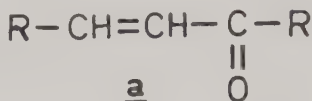
NMR-Spektrum von 32 in Deuteriochloroform, TMS als innerer Standard.

Im NMR-Spektrum liegt Proton a bei $\tau=3.4$ und zeigt infolge Allylkopplung eine schwache Aufspaltung. Die Protonen b und c sind bei $\tau=5.2$ und 5.4 , die Methylgruppe d bei $\tau=7.8$ und die Methylgruppen e und f sowie g und h jeweils als Singulett bei $\tau=6.4$ und 6.6 zu finden. Die Flächenverhältnisse betragen 1:1:1:3:6:6. Die Bildung von 32 kann durch eine unvollständige Spaltung des Dimethylacetals erklärt werden. Der Reaktionsmechanismus wird im Primärschritt auf eine Aldoladdition zweier Moleküle Methylglyoxal-Dimethylacetal mit anschließender Wasserabspaltung beruhen.

Diese gefundene Struktur zeigt, daß acetalisierte 1.2-Dicarbonylverbindungen als Modellschubstanzen unter Maillard-Bedingungen Kondensationen eingehen können. Es ist vorstellbar, daß diese Reaktion zu hochmolekularen konjugierten Verbindungen weitergeführt werden kann.

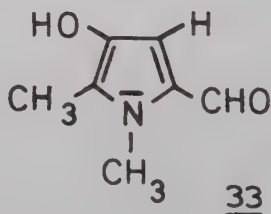
Bei der Untersuchung von Peak 6 im analytischen Gaschromatographen zeigte sich, daß die Substanz aus mehreren Einzelkomponenten zusammengesetzt ist. Eine weitere Reinigung der öligen Substanz gelang nicht. Das IR-Spektrum zeigt eine breite Carbonylbande bei 1660 bis 1690 cm^{-1} , die einer α/β -ungesättigten Aldehyd- oder Ketogruppe (a) oder auch einer Arylketon(aldehyd)-

Struktur (b) zugeordnet werden kann.



IR-Spektrum der Substanz zu Peak VI in KBr.

Die Substanz zu Peak VII wurde in der Kühlfalle kristallin und konnte durch Umkristallisation gut gereinigt werden. Aufgrund der IR-, NMR-, Massenspektren und der Elementaranalyse wurde ihr die Struktur 3-Hydroxy-1.2-dimethyl-pyrrolaldehyd-(5) zugeordnet. Die Substanz ist in der Literatur bisher nicht beschrieben.

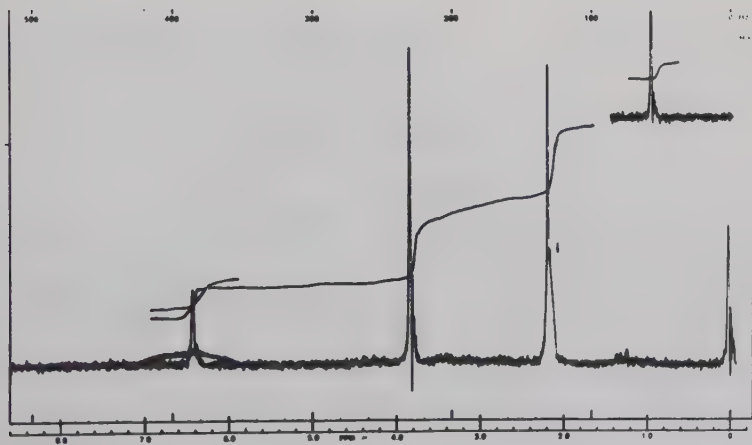


Die relativ niedrigere Wellenzahl der Aldehydbande bei 1640 cm^{-1} wird durch die Konjugation mit dem Pyrrolring hervorgerufen. Eine Schwingung bei 1550 cm^{-1} kann dem aromatischen System zugeordnet werden.



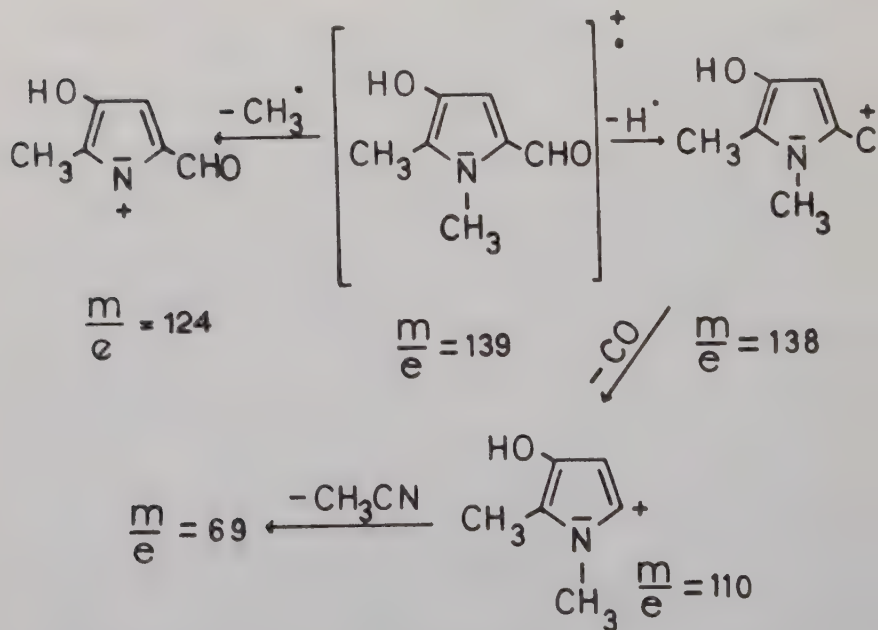
IR-Spektrum von 33 in KBr.

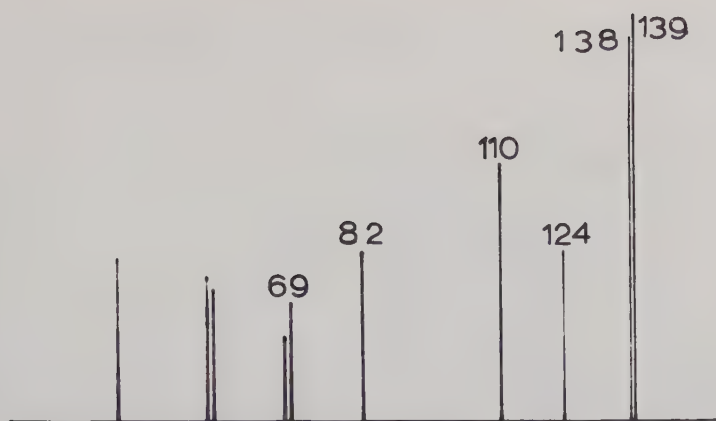
Das NMR-Spektrum zeigt das Aldehydproton als Singulett bei $\tau=1.3$, ein aromatisches Proton bei $\tau=3.5$, darunter erscheint schwach ausgeprägt das Hydroxylproton, was sich durch die Integration und an der schwach angehobenen Grundlinie feststellen läßt. Nach H/D-Austausch nimmt die Flächenintegration entsprechend ab. Die N-Methylgruppe findet sich bei $\tau=6.1$, die 2-Methylgruppe als Singulett bei $\tau=7.8$.



NMR-Spektrum von 33 in Deuteriochloroform. TMS als innerer Standard.

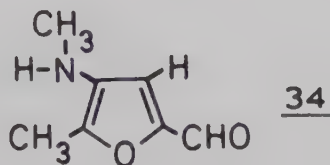
Das Massenspektrum von 33 zeigt den Molekülpeak bei 139, das Kation $m/e = 138$ (95%) weist auf den Verlust des Wasserstoff-Radikals hin. Anschließende CO-Abspaltung ergibt $m/e = 110$ (65%). N-Methylabspaltung führt parallel zu $m/e = 124$ (25%). Das deformylierte Kation verliert unter Ringzerstörung CH_3CN bei Bildung von $m/e = 69$ (20%).



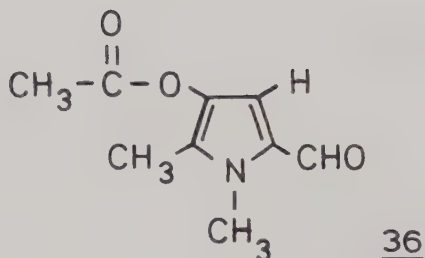


Massenspektrum von 33.

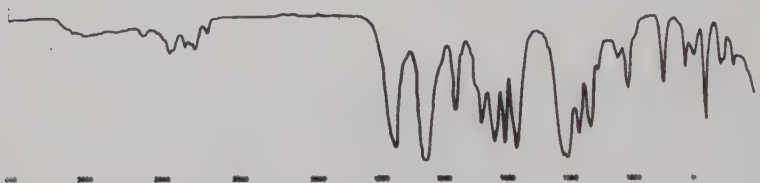
Aufgrund der Elementaranalyse und der genannten Spektren käme auch eine andere Struktur, nämlich 3-Methylamino-2-methyl-furaldehyd-(5) in Frage (34).



Zur Entscheidung dieser Frage wurde das Acetylderivat hergestellt. Liegt der Hydroxypyrrrolaldehyd (33) vor, so müßte ein Ester entstehen. Im Falle des Methylaminofuraldehyds (34) würde sich ein Säureamid bilden. Die Acetylierung mit Acetanhydrid ergab ein öliges Produkt. Aufgrund der Spektren und der Elementaranalyse handelt es sich um das Acetylderivat von 33 (Formel 36).

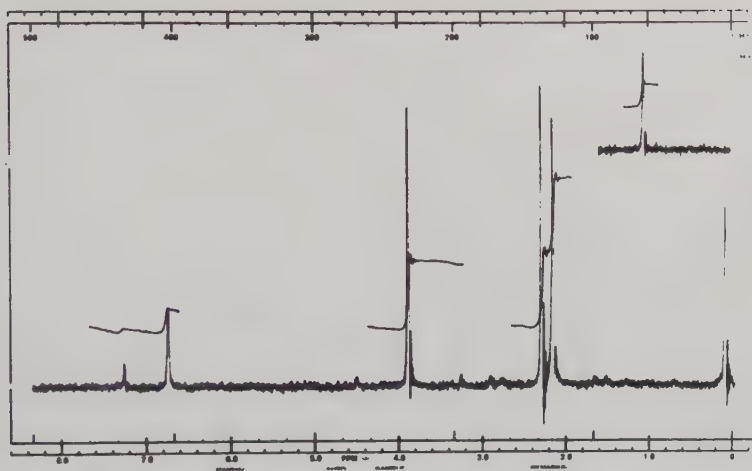


Das IR-Spektrum von 36 zeigt keine Hydroxylbande, die Esterbande findet sich in dem für Arylester typischen Bereich von 1760 cm^{-1} , die Aldehydbande liegt bei 1640 cm^{-1} .



IR-Spektrum von 36 in KBr.

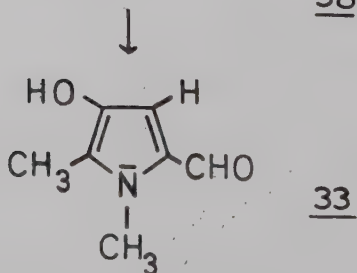
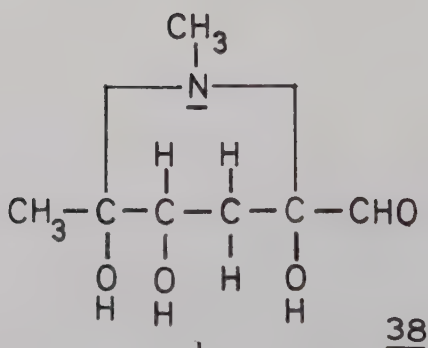
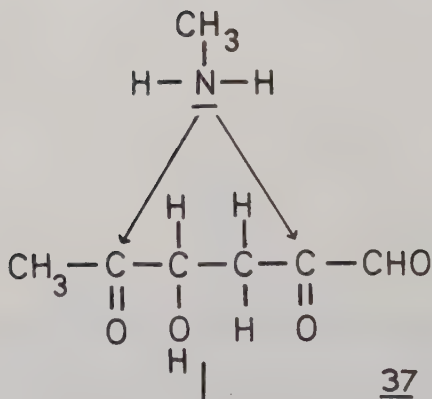
Das NMR-Spektrum zeigt das Aldehydproton bei $\tau = 1.3$, das aromatische Proton findet sich bei $\tau = 3.3$, die N-Methylgruppe liegt bei $\tau = 6.1$, die Acetyl- und 2-Methylgruppe sind bei $\tau = 7.6$ und 7.8 zu finden.



NMR-Spektrum von 36 in Deuteriochloroform. TMS als innerer Standard.

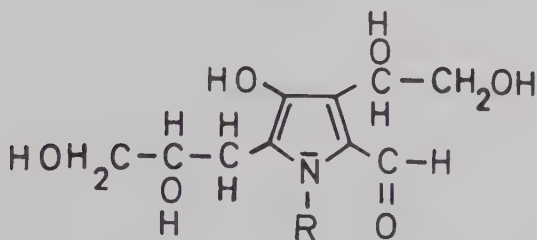
Für die Lage der OH-Gruppe wäre auch die 4-Stellung denkbar. Die folgenden Betrachtungen über den Reaktionsmechanismus lassen nur eine Entscheidung für Struktur 33 zu:

Für die Bildung von 33 kann als erster Schritt eine aminkatalysierte Aldoladdition zweier Moleküle Methylglyoxal angenommen werden. An das Aldoladdukt greift Methylamin in 2- oder 5-Stellung nucleophil an (37), anschließende Cyclisierung (38) und zweifache Wasserabspaltung führt zur Substanz 33 (Schema 8). Der zweite Reaktionsschritt entspricht dem Prinzip der bekannten Pyrrolsynthese aus 1.4-Diketonen und Aminen.

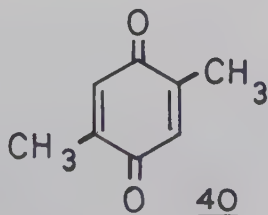


Analog zur Verbindung 33 wurde der 3-Hydroxy-2-methyl-1-
aethyl-pyrrolaldehyd-(5) 35 dargestellt. Die Diskussion der
Spektren findet sich im experimentellen Teil.

Die Substanz 33 ist in Bezug auf die Melanoidinbildung des Methylglyoxals interessant. Die Annahme von C. Enders und S. Sigurdson⁵⁹⁾, die als Primärschritt eine Aldoladdition des Methylglyoxals forderten, wird durch die Auffindung dieser Substanz erhärtet. Des weiteren lassen sich theoretische Schlüsse bezüglich des Einbaues der Aminkomponente in das Melanoidingerüst ziehen. Wie bereits erwähnt, spielen niedermolekulare cyclische Umsetzungsprodukte bei der Maillard-Reaktion eine wichtige Rolle. So gelang es H. Kato⁴¹⁾ und Mitarbeitern aus den Umsetzungsprodukten von Furanaldehyd mit Aminkomponenten braune Pigmente zu isolieren. Auch die Befunde von K. Heyns und E. Hauber¹⁷⁾, die nach pyrolytischer Spaltung eines braunen Pigmentes 2-Hydroxyacetyl-furan(1) fanden, unterstützen die Annahme, daß niedermolekulare aromatische Verbindungen in das Melanoidingerüst eingebaut werden. Man darf vermuten, daß 3-Desoxy-1.2-pentosone eine analoge Reaktion unter Bildung folgender Verbindung eingehen:



Vom 2.3-Butandion ist es seit längerer Zeit bekannt, daß es unter dem Einfluß von Alkali zum p-Xylochinon⁷²⁾ cyclisiert (40). Diese Reaktion wird später näher besprochen.



Es liegt nahe für das Methylglyoxal, wie auch für 3-Desoxy-1.2-osone dieselbe Reaktion anzunehmen, die zur Bildung von p-Chinon bzw. dessen Derivaten führen müßte. Bekanntlich absorbieren diese Verbindungen im Bereich des sichtbaren Lichtes und könnten vielleicht für die Farbe der Melanoidine mitverantwortlich gemacht werden. In der Literatur findet sich kein Hinweis für die Chinonbildung aus Methylglyoxal, sodaß es von Interesse erscheint, das Methylglyoxal auf die Bildung von Chinonen unter Maillardbedingungen zu untersuchen.

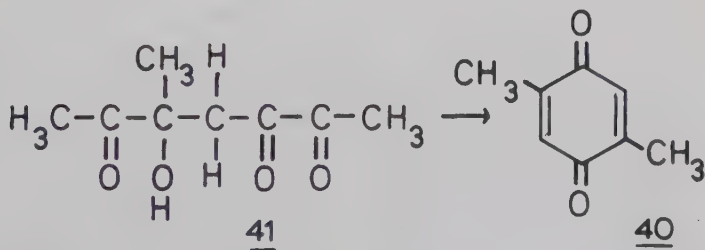
Es ist auch möglich, daß das unter Umständen gebildete Chinon in dem stark reduzierenden Medium Methylglyoxal/Methylammoniumacetat zum p-Hydrochinon reduziert wird, so daß auch auf diese Substanz geprüft werden muß. Es erschien zweckmäßig, die An- und Abwesenheit von p-Hydrochinon und p-Chinon gaschromatographisch zu untersuchen. Bei entsprechenden Versuchen konnten keine Peaks mit den für Chinon bzw. Hydrochinon typischen Retentionszeiten gefunden werden. Bei Zugabe von p-Chinon und p-Hydrochinon traten deutlich neue Peaks auf, womit die Abwesenheit dieser Substanzen in dem Methylglyoxal/Methylammoniumacetat-Umsetzungsgemisch als nachgewiesen gelten kann. Als untere Nachweisgrenze konnte 1 ⁰/oo festgelegt werden.

Umsetzung von 2.3-Butandion mit Methylammoniumacetat.

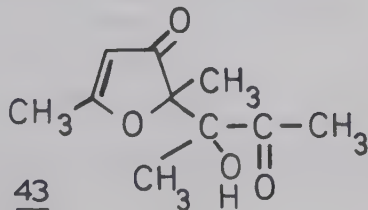
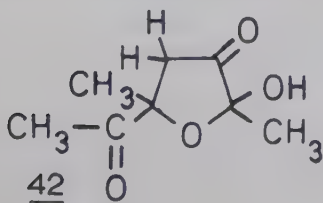
Wie bereits erwähnt, werden bei der Bildung niedermolekularer Zuckerabbauprodukte 4-Desoxy-2.3-osone als hypothetische Zwischenprodukte angenommen. Analog dem Methylglyoxal wurde das 2.3-Butandion als Modellsubstanz für diese Osone unter Maillard-Bedingungen umgesetzt.

2.3-Butandion konnte in vielen Lebensmitteln als Aromakomponente identifiziert werden. Es tritt als Hauptaromaträger der Butter auf, 2.3-Butandion wurde in Rindfleisch⁶⁵⁾, Bier, Honig⁶⁶⁾, in Erdbeeren, Himbeeren⁶⁷⁾ sowie in einigen ätherischen Ölen⁶⁸⁾ aufgefunden. Wie das Methylglyoxal wurde 2.3-Butandion beim Abbau von Zuckern mit Aminosäuren⁶⁹⁾ nachgewiesen. Es bildet sich ebenfalls bei der trockenen Destillation von Holz, Stärke, Cellulose und einigen Zuckern⁷⁰⁾.

Unter dem Einfluß von Säuren entsteht ein trimolekulares Diacetyl⁷¹⁾, während unter Alkalikatalyse das p-Xylochinon⁷²⁾ gefaßt werden konnte. Als Zwischenprodukt tritt dabei das Aldoladdukt 4-Hydroxy-4-methyl-heptan-trion-(2.3.5) (41) auf.



In jüngster Zeit wurde von A.J. Birch und C.J. Moya⁷³⁾ ein weiteres Selbstkondensationsprodukt unter Alkalikatalyse gefaßt, dessen Struktur mit 2-Hydroxy-2.5.-dimethyl-tetrahydro-furanon-(3) (42) angegeben wird.



R. Shapiro und J. Hackmann⁷⁴⁾ gelang die Identifizierung eines weiteren Furanons, dem sie die Struktur 2-(1-Hydroxy-1-methyl-2-oxopropyl)-2.5-dimethyl-2.3-dihydro-furanon-(3) (43) zuordneten.

Die weite Verbreitung von 2.3-Butandion, wie auch die Beobachtung, daß es ebenso wie Methylglyoxal beim thermischen, sauren wie auch alkalischen Zuckerabbau auftritt, veranlaßten C. Enders⁵⁷⁾ dazu, dem 2.3-Butandion bei der Melanoidinbildung eine dem Methylglyoxal ähnliche Rolle zuzuschreiben. Reaktionskinetische Vergleiche mit verwandten Verbindungen und Zuckern erhärteten diese Annahme.

Diese Substanz wurde unter Maillard-Bedingungen umgesetzt, um durch Isolierung niedermolekularer Reaktionsprodukte Aufschluß über den Melanoidin-Bildungsmechanismus zu erhalten. Dazu wurden äquimolare Mengen 2.3-Butandion und Methylammoniumacetat im wässrigen Medium erhitzt, wobei erwartungsgemäß eine rasche Braunfärbung eintrat. Das Reaktionsgemisch zeigte ein unübersichtliches Dünnschichtchromatogramm. Nach Extraktion mit Methylenchlorid erfolgte eine Destillation im Hochvakuum. Anschließend wurde eine gaschromatographische Auftrennung des Destillates vorgenommen.

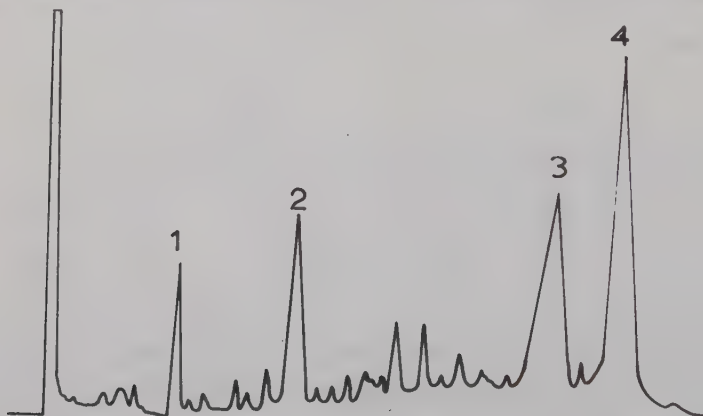
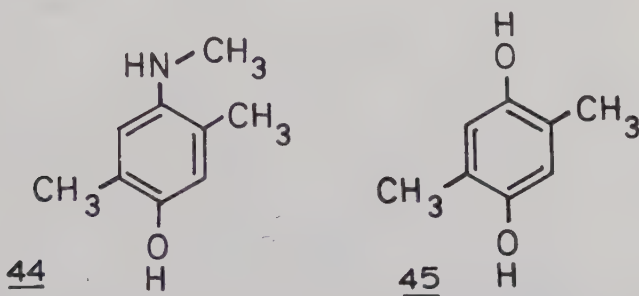


Fig. 10: Analytisches Gaschromatogramm der flüchtigen Teile des Umsetzungsgemisches 2.3-Butandion/Methylammoniumacetat.

Dieses Gaschromatogramm weist vier Hauptpeaks auf. Zur Gewinnung größerer:

Substanzmengen wurde das Gemisch im präparativen Gaschromatographen aufgetrennt.

Bei Peak 1 handelt es sich um Essigsäure, während Peak 2 durch Essigsäure-methylamid hervorgerufen wird. Die Struktur der zum dritten Peak gehörenden Substanz wurde mit 4-Methylamino-2.5-dimethyl-phenol (44) festgelegt. Diese Substanz ist bekannt⁷⁵⁾ und konnte über ihre IR- und NMR-Spektren sowie über den Schmelzpunkt identifiziert werden.

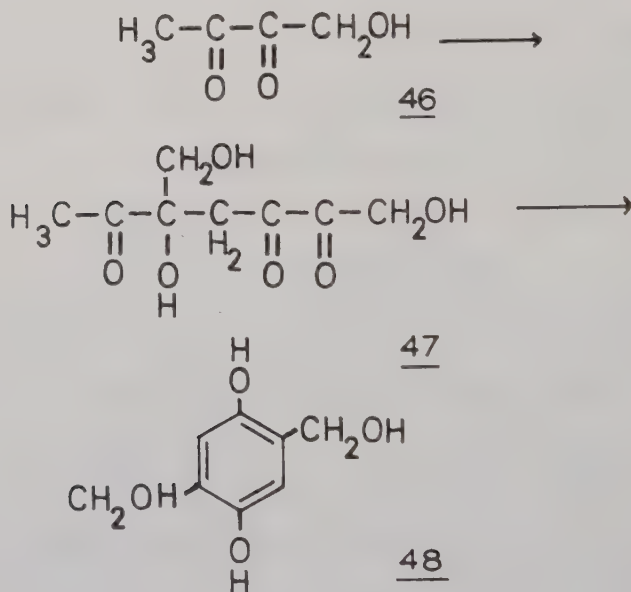


Die Substanz zu Peak IV wurde als p-Xylohydrochinon (45) durch den Mischschmelzpunkt identifiziert. Als Zwischenstufe für die Bildung dieser beiden Hydrochinone kann das p-Xylochinon angenommen werden. Wie erwähnt, bildet sich diese Substanz durch Alkalikatalyse aus 2.3-Butandion. Es ist wahrscheinlich, daß in dem Maillard-Medium sofortige Reduktion erfolgt. Der Nachweis von p-Xylochinon in diesem Umsetzungsprodukt gelang nicht. Es darf angenommen werden, daß auch bei der Umsetzung der hypothetischen 4-Desoxy-2.3-osone derartige Hydrochinonderivate entstehen können.

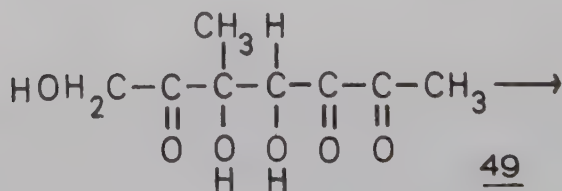
Setzt man Tetrosen als einfachste Zucker mit Aminokomponenten um, so könnte die Bildung eines 4-Desoxy-2.3-tetrosons (46) erfolgen.

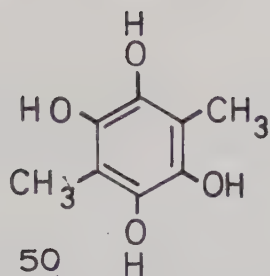
Diesem Oson stehen mehrere Wege zur Selbstkondensation offen: Findet die Reaktion an den Methylgruppen statt, so müßte über das 3-Hydroxymethyl-

heptandiol-(3.7)-trion-(2.5.6) (47) das p-Di-(hydroxymethyl)-hydrochinon (48) entstehen.



Bei einer Kondensation an der Hydroxymethylgruppe müßte sich analog das p-Dihydroxy-p-xylohydrochinon (50) bilden.

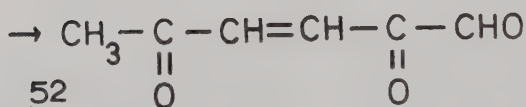
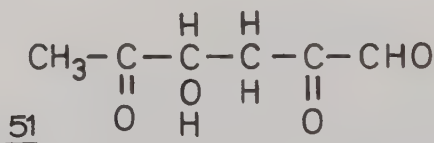




Beide genannten Hydrochinone sind bekannt⁷⁶⁾. Es wurden Umsetzungen mit einer Tetrose unternommen, die Versuche mußten jedoch wegen der schwierigen Zugänglichkeit dieses Zuckers zurückgestellt werden.

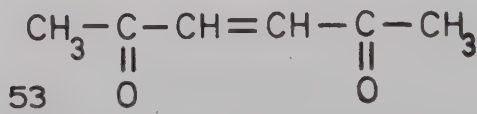
4. Versuch zur Synthese niedermolekularer Methylglyoxal-Kondensationsprodukte.

Bei der Reaktion von zwei Molekülen Methylglyoxal miteinander ist eine aminkatalysierte Aldoladdition zu erwarten, wobei 4-Hydroxy-hexan-trion-(1.2.5) (51) entstehen müßte, unter Wasserabspaltung würde eine Umsetzung zum Hexen-(3)-trion-(1.2.5) (52) erfolgen.

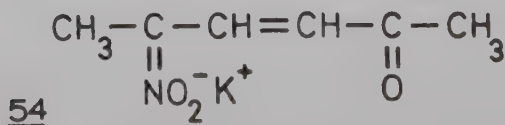


Es wurde versucht, diese Verbindung zu synthetisieren, um sie als Vergleichssubstanz zum Nachweis im Umsetzungsprodukt, oder als Ausgangssubstanz für weitere Versuche zur Verfügung zu haben.

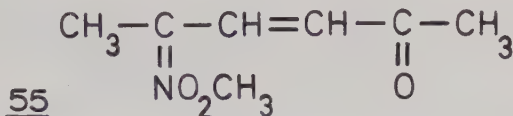
Kürzlich beschrieben Th. Severin und H. Kullmer⁷⁷⁾ eine neue Synthese des trans-Hexen-(3)-dion-(2.5) (53), wobei man folgenden Syntheseweg beschritt:



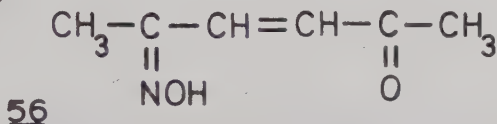
Aceton wurde mit 2-Nitro-1-dimethylamino-propen in Gegenwart von Kaliumäthylat zum Kaliumsalz des 5-(aci-Nitro)-hexen-(3)-on-(2) (54) umgesetzt.



Methylierung mit Dimethylsulfat in Gegenwart von Natriumhydrogencarbonat erbrachte das 5-(0-Methyl-aci-nitro)-hexen-(3)-on-(2) (55).

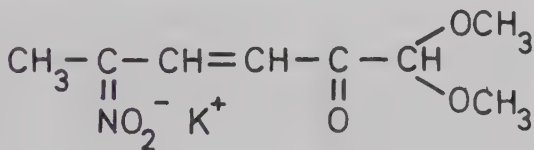


Man erhält dann durch Erhitzen in siedendem Dioxan das 5-Oximino-hexen-(3)-on-(2) (56).



Durch Oximspaltung mit Formaldehyd/Salzsäure kommt man schließlich zum Hexen-(3)-dion-(2.5) (53).

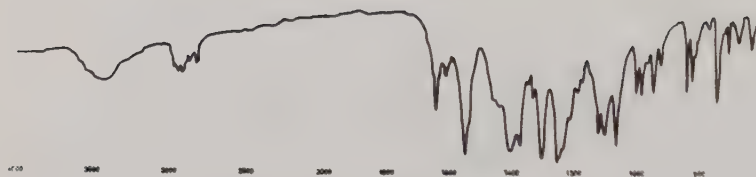
Analog zu dem von Th. Severin und H. Kullmer beschriebenen Verfahren wurde aus 2-Nitro-1-dimethylamino-propen und Methylglyoxal-Dimethylacetal in Gegenwart von Kaliumaethylat das Kaliumsalz des 1.1-Dimethoxy-5-(aci-nitro)-hexen-(3)-on-(2) (60) hergestellt.



60

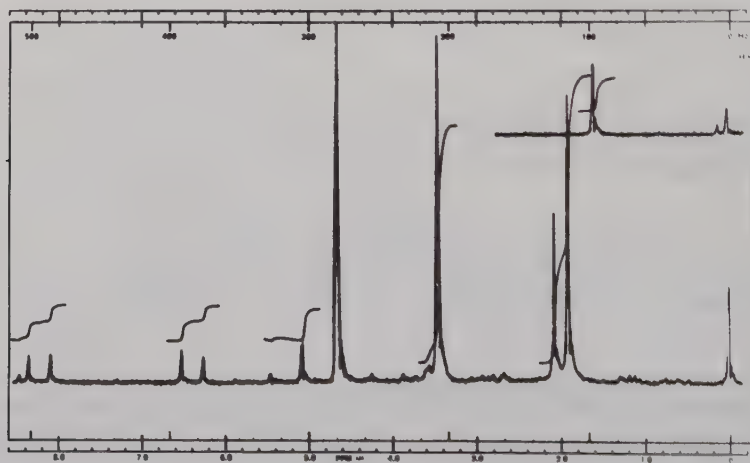
Um Nebenreaktionen des reaktiven Methylglyoxals auszuschließen, wurde das Dimethylacetal verwendet. Bei der im letzten Syntheseschritt erforderlichen Säurespaltung sollte voraussichtlich ohnehin auch eine Acetalspaltung eintreten.

Das IR-Spektrum des Kaliumsalzes weist die Carbonylschwingung bei 1645 cm^{-1} auf, eine Bande bei 1550 cm^{-1} darf der aci-Nitroschwingung zugeordnet werden.



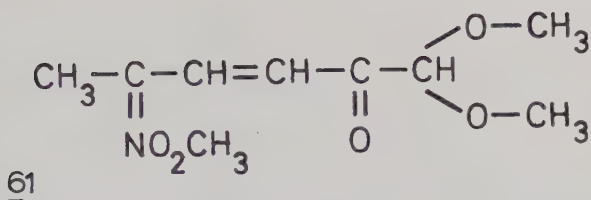
IR-Spektrum von 60 in KBr.

Im NMR-Spektrum findet man die Methoxylgruppen als ein Singulett bei $\tau = 6.5$, das Proton am C_1 bei $\tau = 4.95$, die olefinischen Protonen als Dubletts bei $\tau = 1.9$ und $\tau = 3.6$. Die hohe Kopplungskonstante deutet auf eine trans-Stellung hin. Ein Singulett bei $\tau = 0.2$ sowie ein Singulett bei $\tau = 8.0$ zeigen eine Verunreinigung mit dem Kaliumsalz des 2-(aci-Nitro)-propionaldehyds an.

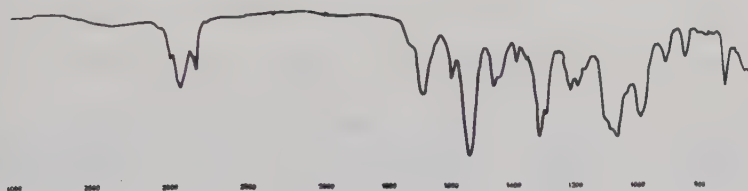


NMR-Spektrum von 60 in D_2O TMS als innerer Standard.

Die Methylierung mit Dimethylsulfat in Gegenwart von Natriumhydrogencarbonat führte erwartungsgemäß zum 1.1-Dimethoxy-5-(0-methyl-aci-nitro)-hexen-(3)-on-(2) (61).

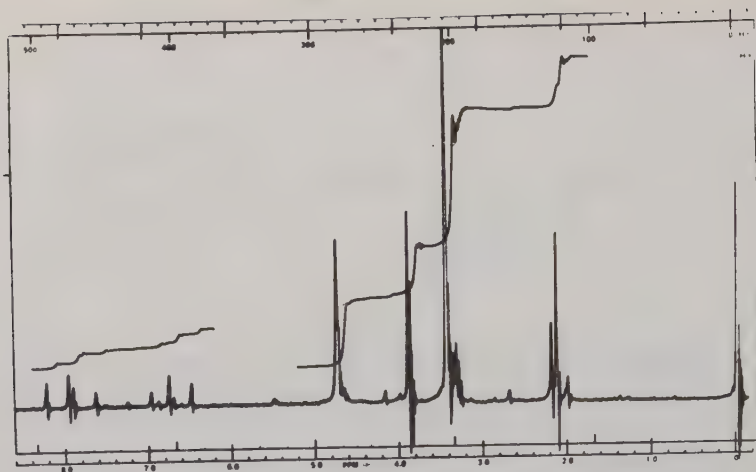


Das IR-Spektrum zeigt die Carbonylbande bei 1680 cm^{-1} , eine Bande bei 1550 cm^{-1} kann als aci-Nitroschwingung interpretiert werden.



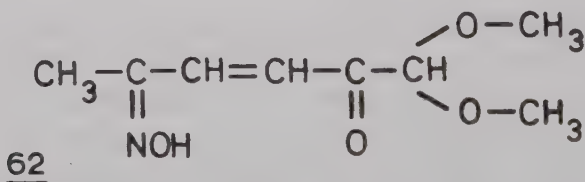
IR-Spektrum von 61 in KBr.

Im NMR-Spektrum findet man die endständige Methylgruppe bei $\tau=7.9$ als Singulett, die Methoxylgruppen bei $\tau=6.6$ ebenfalls als Singulett, die aci-Nitro-Methylgruppe bei $\tau=5.3$, das Proton am C_1 ist dem Singulett bei $\tau=6.2$ zuzuordnen. Für die olefinischen Protonen sind zwei Dubletts mit großer Kopplungskonstante bei $\tau=2.0$ und $\tau=3.0$ festzustellen. In diesem Bereich liegt auch der Lösungsmittelpeak.

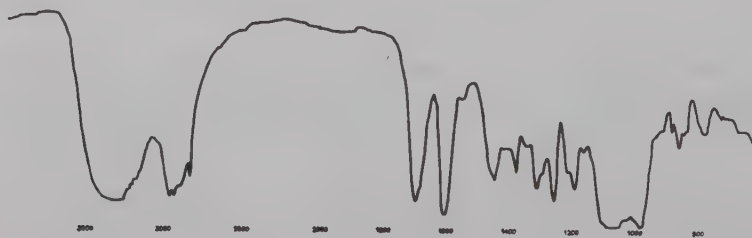


NMR-Spektrum von 61 in CDCl_3 . TMS als innerer Standard.

Die Umsetzung zum 1.1-Dimethoxy-5-oximino-hexen-(3)-on-(2) (62) erfolgte durch Erhitzen in Aethanol. Das Produkt kann man durch präparative Schichtchromatographie reinigen.

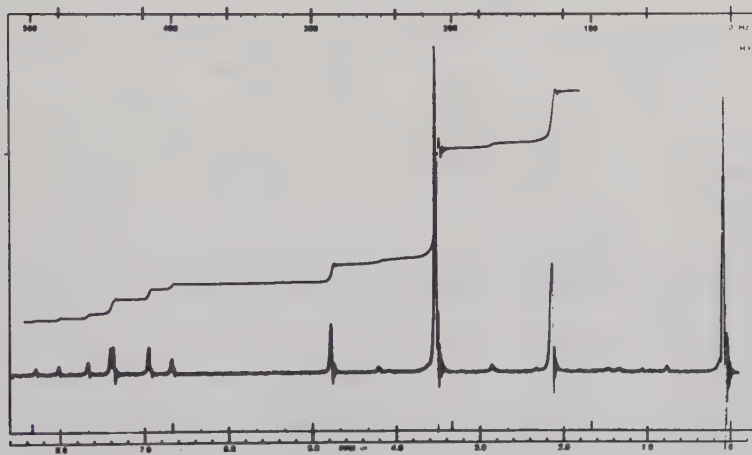


Das IR-Spektrum läßt eine breite Hydroxylbande bei $3550 - 3100 \text{ cm}^{-1}$ erkennen, die Carbonylschwingung liegt bei 1700 cm^{-1} , eine Schwingung bei 1610 cm^{-1} kann der olefinischen Doppelbindung zugeschrieben werden.



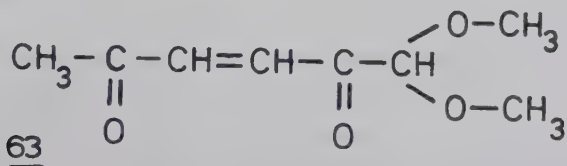
IR-Spektrum von 62 in KBr.

Das NMR-Spektrum zeigt die Methoxylgruppen bei $\tau=6.5$ als Singulett, das Proton am C_1 bei $\tau=5.2$, die endständige Methylgruppe bei $\tau=7.8$, die olefinischen Protonen als Dubletts mit hoher Kopplungskonstante bei $\tau=2.4$ und $\tau=3.3$. Bei $\tau=2.6$ finden wir zusätzlich ein vom Lösungsmittel erzeugtes Singulett.

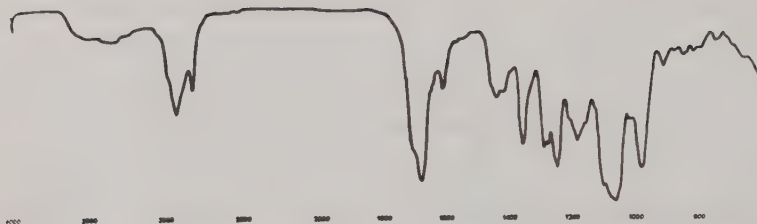


NMR-Spektrum von 62 in $CDCl_3$. TMS als innerer Standard.

Die Oximspaltung wurde nun auf verschiedene Art versucht. Das von Th. Severin und H. Kullmer vorgeschlagene Verfahren mit Salzsäure/Formaldehyd führte zu keinem brauchbaren Ergebnis. Nach Erhitzen mit n/10 Salzsäure konnte eine Verbindung gefaßt werden, die nach Reinigung durch präparative Schichtchromatographie als 1.1-Dimethoxy-hexen-(3)-dion-(2.5) (63) identifiziert werden konnte.

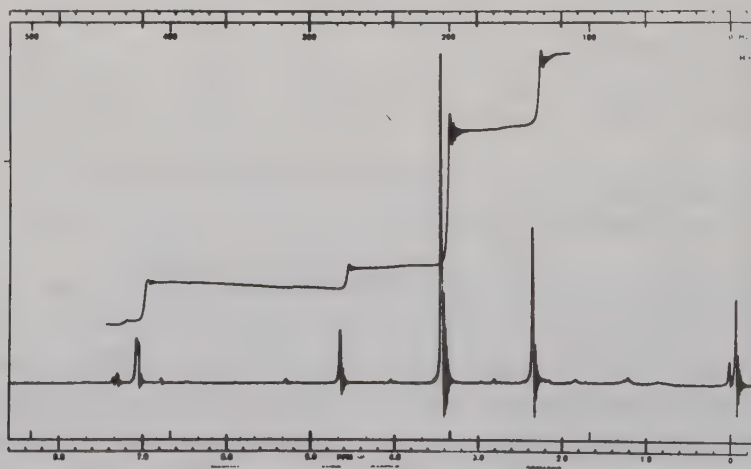


Das IR-Spektrum zeigt eine deutliche Carbonylbande bei 1680 cm^{-1} , mit einer Schulter bei 1690 cm^{-1} .



IR-Spektrum von 63 in KBr.

Das NMR-Spektrum zeigt die olefinischen Protonen als schwach aufgespaltenes Singulett bei $\tau=3.0$, die Methoxylgruppen finden sich als Singulett bei $\tau=6.6$, das Proton am C_1 bei $\tau=5.4$, die endständige Methylgruppe bei $\tau=7.6$.



NMR-Spektrum von 63 in $CDCl_3$. TMS als innerer Standard.

Die Acetalspaltung wurde nun mit mehreren Methoden versucht, das gewünschte Produkt 52 konnte jedoch bisher nicht erhalten werden. Offenbar reagiert diese Verbindung sehr rasch mit sich selbst unter Aldoladdition weiter. In der Tat konnte beim Versuch dieser Acetalspaltung die Bildung dunkler Produkte beobachtet werden, was auf eine derartige Reaktion hinweist.

Zusammenfassung:

Mit "Maillard-Reaktion" bezeichnet man die Bildung brauner Substanzen in Lebensmitteln. Diese Verbindungen entstehen beim Lagern oder Erhitzen aus Zuckern und Aminosäuren oder Proteinen auf nichtenzymatischem Wege.

Über die Struktur dieser Pigmente ist bisher wenig bekannt. Man nimmt an, daß es sich um Moleküle mit mittlerem und höherem Molekulargewicht handelt, die Carbonylgruppen, ungesättigte konjugierte Verbindungen sowie aromatische Ringe in ihrem Molekülverband enthalten.

Als Primärschritt dieser Reaktion nimmt man eine Kondensation zwischen der Carbonylgruppe des Zuckers und der Aminogruppe einer Aminosäure zu einem Aldosyl- bzw. Ketosylamin an. Diese Verbindungen lagern sich leicht in eine 1-Desoxy-1-amino-ketose bzw. eine 2-Desoxy-1-amino-aldose um.

Diese Umlagerungsprodukte unterliegen wiederum in wässriger Lösung der Zersetzung, wobei 3-Desoxy-1.2-osone entstehen. Diese reaktiven Verbindungen sind Zwischenglieder für die Bildung flüchtiger Zuckerumwandlungsprodukte, von denen in jüngster Zeit zahlreiche Verbindungen bekannt wurden. Für die Bildung einiger derartiger Verbindungen müssen auch 4-Desoxy-2.3-osone als Zwischenprodukte angenommen werden, die bisher nicht isoliert werden konnten.

Von vielen Autoren werden die Desoxy-osone als Ausgangsprodukte für die Melanoidinbildung angesehen. Unklarheit herrscht jedoch über den Mechanismus dieser Reaktion. Zu untersuchen ist vor allem die Art der Kondensation sowie der mögliche Einbau der Stickstoffkomponenten in das Melanoidingerüst. Die Klärung dieser Fragen wurde zum Ziel der vorliegenden Arbeit.

Zur Vereinfachung der Reaktionsbedingungen wurden Modellschubstanzen eingesetzt. Methylglyoxal wurde als Modellverbindung für 3-Desoxy-1.2-osone gewählt, während für die hypothetischen 4-Desoxy-2.3-osone das 2.3-Butandion geeignet erschien. Beide α -Dicarbonylverbindungen treten als Zuckerabbauprodukte auf, sie wurden auch als Aromakomponenten in Lebensmitteln aufgefunden. Als Aminkomponente wurde mit Essigsäure neutralisiertes Methylamin verwendet. Durch Isolierung flüchtiger Reaktionsprodukte wurde versucht, Auf-

schlüsse über die Reaktion zwischen Methylammoniumacetat und den genannten α -Dicarbonylverbindungen zu finden. Zur Auftrennung des Reaktionsgemisches erwies sich die präparative Gaschromatographie als geeignetes Verfahren. Bei der Umsetzung des Methylglyoxals konnten 1.5-Dimethyl-2-acetyl-imidazol, 1.1.5.5-Tetramethoxy-2-methyl-penten-(2)-on-(5) isoliert und identifiziert werden. Die Isolierung dieser Substanzen erbrachte Aufschlüsse über das Verhalten des Methylglyoxals und der 3-Desoxy-1.2-ose unter Maillard-Bedingungen: So kann einmal eine direkte Kondensation mit der Aminkomponente zu Imidazolderivaten angenommen werden. Acetalisiertes Methylglyoxal reagiert über eine Aldoladdition mit anschließender Wasserabspaltung zu einem ungesättigten Kondensationsprodukt. Diese Reaktion wird durch das Ammoniumsalz katalysiert. Als dritte Möglichkeit zeigt der aufgefundene Pyrrolaldehyd eine Aldoaddition des Methylglyoxals an, woran sich eine Cyclisierung mit der Aminkomponente anschließt.

Aufgrund dieser experimentellen Befunde ist es wahrscheinlich, daß auch 3-Desoxy-ose unter Maillard-Bedingungen Imidazole und nach Kondensation Pyrrolderivate bilden. Bei acetalisierten 3-Desoxy-1.2-osen darf Selbstkondensation zu ungesättigten Verbindungen angenommen werden. Diese Strukturen sollten auch im Melanoidingerüst aufzufinden sein.

Bei der Umsetzung von 2.3-Butandion mit Methylammoniumacetat konnten 4-Methylamino-2.5-dimethyl-phenol und p-Xylohydrochinon gefaßt werden. Das erwartete p-Xylochinon konnte nicht aufgefunden werden. Die Bildung von p-Xylohydrochinon verläuft jedoch wahrscheinlich über diese Zwischenstufe. Im Falle des Methylglyoxals konnten hingegen weder p-Chinon noch p-Hydrochinon nachgewiesen werden.

Die geschilderten Umsetzungen regen dazu an, die gefundenen Strukturelemente in Melanoidinen selbst nachzuweisen.

Literaturverzeichnis

- 1) L.C. Maillard, C.R. hebd. Séances Acad.Sci. 154, 66 (1912)
- 2) L.J. Schroeder, M. Jacobellis u. A.H. Smith
J. biol. chemistry 212, 973 (1955)
- 3) a. C.H. Lea u. R.S. Hannan, Biochim. biophysica Acta 3, 313 (1949)
b. G. Haugaard, L. Tummermann u. H. Silvestri,
J.Amer.chem.Soc. 73, 4594 (1951)
- 4) H. Borsook u. H. Wasteneys, Biochem. J. 19, 1128 (1925)
- 5) H.v. Euler u. K. Josephson, Hoppe-Seylers,
Z. physiol. Chem. 153, 1 (1926)
- 6) M.L. Wolfrom u. C.S. Roney, J.Amer.chem.Soc. 75, 5435 (1953)
- 7) H. Kato, Bull.Agric. Chem.Soc.Japan 20, 273 (1956)
- 8) H. Fraenkel-Conrat, A. Mohammad u. H.S. Olcott,
Arch.Biochem.Biophysics 24, 157 (1949)
- 9) B.H. Webb, J.Dairy Sci. 18, 81 (1935)
- 10) B. Bauminger u. F. Lieben, Biochem. J. 292, 92 (1937)
- 11) S.M. Cantor u. Q.P. Peniston, J. Amer.chem.Soc. 62, 2113 (1940)
- 12) H.H. Beachman u. M.F. Dull, Food.Res. 16, 439 (1951)
- 13) L.C. Maillard, Ann.Chim.analyt. (11) 5, 258 (1916)
- 14) C. Enders u. K. Theis, Brennstoff-Chem. 19, 350 u. 402
- 15) T.M. Reynolds, Advances Food.Res. 12, 39 (1963)
- 16) H.D. Cremer u. E. Menden, Z.Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 104,
33 (1956)
- 17) K. Heyns u. E. Hauber, Liebig's Ann.Chem. 733, 159 (1970)
- 18) G.P. Ellis u. J. Honeyman, Advances Carbohydrate Chem. 10,
95 (1955)

- 19) H.S. Isbell u. H.L. Frush, J. org.Chemistry 28, 2784 (1963)
- 20) K. Heyns, K.H. Eichstedt u. K.H. Meinecke, Chem.Ber. 88
1551 (1955)
- 21) K. Heyns u. H. Paulsen, Liebig's Ann.Chem. 622, 160 (1959)
- 22) H. Borsook, A. Abrams u. P.H. Lovy, J.Biol. Chemistry 215,
111 (1928)
- 23) A. Gottschalk, Biochem. J. 52, 455 (1952)
- 24) F. Micheel u. J. Dijong, Tetrahedron Letters 1962, 21
- 25) E.F.L.J. Anet, Austral.J.Chem. 13, 396 (1960)
- 26) H.S.Isbell u. H.L. Frush, J.org.Chemistry 23, 1309 (1958)
- 27) a. H. Kato, Bull. agric.chem.Soc.Japan 24, 1 (1960)
b. H. Kato, Agric.biol.Chem.(Tokyo) 25, 671 (1961)
- 28) H.E. Khadem, D. Horton u. M.A. Nashed,
Carbohydr. Res. 13, 317 (1970)
- 29) H. Kato u. Mitarb., Nippon Nogei-Kagaku Kaishi 32,
412 (1961) (C.A. 62, 9699 (1965))
- 30) Laslo G. Eguyd, Carbohydr. Res. 23, 307 (1972)
- 31) M.L. Wolfrum u. Mitarbeiter., J. Amer.chem.Soc. 70, 514 (1948)
- 32) H.S. Isbell, J.Res.nat.Bur.Standarts 32, 45 (1944)
- 33) E.F.L.J. Anet, Advances Carbohydrate Chem. 19, 181 (1964)
- 34) M.L. Wolfrom u. E.G. Wallace, J.Amer.chem.Soc. 64, 265
(1942)
- 35) I.U. Nef, Liebig's Ann.Chem. 376, 1 (1910)
- 36) G. Machell u.G.N. Richards, J.Chem.Soc. 1960, 124
- 37) H.Sugisawa u. K. Sudo, Canad.J.Food Technol. Vol.2,
Nr. 2 (1969)

- 38) a. P.E. Shaw u. J.H. Tatum, Carbohydr. Res. 5, 266 (1967)
b. P.E. Shaw, J.H. Tatum u. R. Berry, J. Agric. Food. Chem. 16,
979 (1968)
- 39) G. Jurch u. J.H. Tatum, Carbohydr. Res. 15, 233 (1970)
- 40) H. Kato u. Y. Sakurai, Agric. biol. Chemistry (Tokyo) 27, 33 (1963)
(C.A. 63, 6247)
- 41) S.J. Cole, J. Food Sci. 32, 245 (1967)
- 42) C. Enders, Biochem. Z. 312, 342 (1942)
- 43) H. v. Pechmann, Chem. Ber. 20, 3213
- 44) M. Riley u. R. Friend, J. chem. Soc. 1932, 2344
- 45) J. Meisenheimer, Chem. Ber. 45, 2639
- 46) J. Meisenheimer, Chem. Ber. 45, 2637
- 47) L. Wiseblatt u. F.E. Kohn, Cereal. chem. 37, 55 (1960)
- 48) H. Lukesch, Naturwissenschaften 43, 108 (1965)
- 49) R.B. Saha u. J.E. Middlekauff, Proceedings,
American society of Brewing Chemists 1970, 176
- 50) Jiri Hrdlicka u. Jan Pokorny, Oddil Fak Potraviraneske
Techn. 6, 161 (C.A. 62, 2953)
- 51) A. Ruiter, Lebensm.-Wiss. u. Technol. 3, Nr. 5 (1970)
- 52) C. Neuberg, Biochem. Z. 71, 145
- 53) M. Fischler, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 157, 10 u. 19
- 54) C. Enders u. B. Marquardt, Naturwissenschaften 29, 46 (1941)
- 55) M. Fischler u. J. Reil, Biochem. Z. 227, 149 (1930)
- 56) M. Fischler u. J. Reil, Biochem. Z. 227, 154 (1930)
- 57) C. Enders, Biochem. Z. 312, 340 (1942)
- 58) C. Enders u. B. Marquardt, Naturwissenschaften 29, 49 (1943)

- 59) C. Enders u. S. Sigurdson, Chem. Ber. 76, 560 (1943)
- 60) a. C. Enders, Biochem. Z. 312, 345 (1942)
b. G. Hahn u. O. Schales, Chem. Ber. 67, 1824 (1934)
- 61) R. Kuhn u. M. Heckscher, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 160, 137
- 62) C. Neuberg u. M. Kobel, Biochem. Z. 185, 477
- 63) M. R. Grimmetts u. E. J. Richards, Austral. J. Chem. 1965, 3751
- 64) C. B. v. Niel, A. J. Kluyver u. H. G. Derx, Biochem. Z. 210, 245
- 65) M. H. Yuck u. F. M. Strong, J. Agric. Food. Chem. 8, 491 (1960)
- 66) H. Schmalfuß u. H. Bartmeyer, Biochem. Z. 216, 332
- 67) R. Coppens u. M. Joejenbos, Recueil Trav. chim. Pays-Bas 58, 676 u. 682 (1939)
- 68) H. Bohnsack, Chem. Ber. 76, 564 (1943)
- 69) C. Neuberg u. M. Kobel, Biochem. Z. 185, 477, 188, 201
- 70) H. Schmalfuß u. H. Bartmeyer, Chem. Ber. 60, 1035
- 71) O. Diels u. H. Jost, Chem. Ber. 35, 3293
- 72) H. v. Pechmann, Chem. Ber. 21, 1419
- 73) A. J. Birch u. C. J. Moye, J. chem. Soc. 1957, 412
- 74) R. Shapiro u. J. Hackmann, J. org. Chemistry 31 (8) 2710 (1966)
- 75) W. W. Kaeding, U.S.P. 3053895, Sept. 11, 1962
- 76) G. Wegner, Nobuo Nakabayashi u. H. G. Casidy, J. chem. Soc. 32, 3155 (1967)
- 77) Th. Severin u. H. Kullmer, Chem. Ber. 104, 440 (1971)
- 78) B. Heymann u. W. Koenigs, Chem. Ber. 20, 2391

Experimenteller Teil

Experimenteller Teil.

1. Umsetzungen mit Methylglyoxal

a) Darstellung aus dem Dimethylacetal^{*)}

In Anlehnung an die von J. Meisenheimer⁴⁶⁾ beschriebene Methode wird ein Mol Methylglyoxal-dimethylacetal in 400 ml n/10 H_2SO_4 eine Stunde am Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen neutralisiert man die Lösung mit n-NaOH gegen Phenolphthalein und setzt direkt weiter um.

b) Umsetzung mit Methylammoniumacetat.

Die nach a) gewonnene Lösung wird mit einem Mol Methylammoniumacetat versetzt, man neutralisiert erforderlichenfalls mit Methylamin oder Essigsäure. Die Mischung wird im Rundkolben zum Sieden erhitzt und nach 5 Min. in Eis/Kochsalz abgekühlt. Nach dem Erkalten extrahiert man in einem Flüssig/Flüssig-Extraktor 3 Stdn. mit 1 l Methylenchlorid. Der schwarzbraune Extrakt wird im Umlaufverdampfer i/Vak. eingeengt (Ausbeute ca. 12g Öl) und im Hochvak. bei 110°/0.1 Torr destilliert. Destillatausbeute 3.0g hellgelbes Öl.

c) Auftrennung im analytischen Gaschromatographen.

Gerät: VARIAN AEROGRAPH Modell 1520

Säule: Stahlsäule 8' x 1/8"

5% Carbowax 20 M auf Chromosorb W 80/100 mesh

Injektor-Temperatur: 300°

Detektor-Temperatur 300°

Säulen-Temperatur: Programm 100-250° 4°/Min.

^{*)} Hersteller: Fa. Schuchardt, München

Reinheit: 99% (GC)

Gasdurchfluß:

He	-	40 ml/Min.
He ₂	-	30 ml/Min.
Luft	-	120 ml/Min.

Einspritzmenge: 1 µl

Flammenionisationsdetektor:

Attenuator	-	1
Range	-	10

Schreiber: Modell Honeywell
Vorschub 460 mm/h

Retentionszeiten: (unkorr.)

Essigsäure	7 Min 3 sec.
Essigsäuremethyamid	9 Min 35 sec.
1.5-Dimethyl-2-acetyl- imidazol (<u>31</u>)	13 Min 38 sec.
1.1, 5.5-Tetramethoxy-2-methyl- penten-(2)-on-(4) (<u>32</u>)	14 Min 10 sec.
Peak VI	20 Min 2 sec.
3-Hydroxy-1.2-dimethyl- pyrrolaldehyd-(5) (<u>33</u>)	32 Min 45 sec.

Auftrennung im präparativen Gaschromatographen:

Gerät: PERKIN ELMER F 21

Säule: Stahlsäule 4500 mm x 9 mm

20% Carbowax 20 M auf Kieselgur "MERCK" 60-80 mesh

Injektortemperatur: 300°

Detektortemperatur: 300°

Säulentemperatur: Programm: 120 - 250° 3°/Min.

Gasdurchfluß:

N₂ - 500 ml/Min.

Strömungsteilung 1:10

H₂ - 30 ml/Min.

Luft - 350 ml/Min.

Einspritzzeit: 15 sec.

Einspritzkapillare: 0.5 mm Ø

Schreiber: Modell SIEMENS

Papiervorschub 120 mm/h

Flammenionisationsdetektor:

Empfindlichkeit: 2

Abschwächung: 4

Retentionszeiten: (unkorr.)

Essigsäure: 19 Min.

Essigsäuremethyramid 28 Min.

1.5-Dimethyl-2-acetyl-
imidazol (31) 38 Min.

1.1, 5.5-Tetramethoxy-2-methyl-
penten-(2)-on-(4) (32) 46 Min.

Peak VI

64 Min.

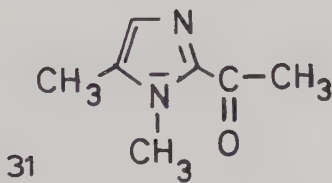
1.2-Dimethyl-3-hydroxy-

pyrrolaldehyd-(5) (33)

94 Min.

Die Substanzen wurden in mit Kohlendioxidschnee/Methanol gekühlten Dewar-Gefäßen aufgefangen.

31. 1.5.-Dimethyl-2-acetyl-imidazol



Die Elementaranalyse wurde nach Destillation im Hochvak. bei 60°/0.01 Torr durchgeführt.

$C_7H_{10}N_2O$ farbloses Öl (138.17)

Ber. C 60.75 H 7.29 N 20.29

Gef. C 59.91 H 7.45 N 19.71

UV-, IR-, NMR, Massenspektrum im theoretischen Teil.

Herstellung des Hydrochlorids:

20 mg der Substanz 31 werden in 2 ml n/10 HCl gelöst und im Vak. eingengt.

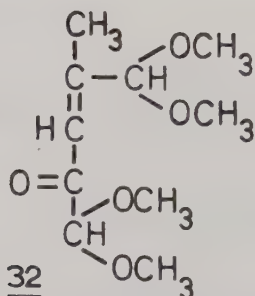
Schmp. 215-216° (Zers.) aus Aceton

$C_7H_{11}N_2OCl$ (174.62)

Ber. C 48.16 H 6.35 N 16.05

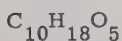
Gef. C 47.91 H 6.21 N 16.10

32. 1.1,5.5-Tetramethoxy-2-methyl-penten-(2)-on-(4)



Elementar-Analyse nach Destillation i/Hochvak. 80°/0.1 Torr.

Farbloses Öl.

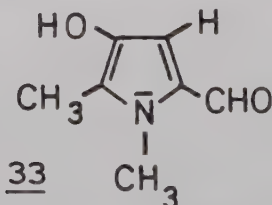


Ber. C 55.05 H 8.31

Gef. C 55.70 H 7.95

Die Diskussion des IR- und NMR-Spektrums findet sich im theoretischen Teil.

33. 3-Hydroxy-1.2-dimethyl-pyrrolaldehyd-(5)



Schmp. 134-136° aus Tetrachlorkohlenstoff/Chloroform

Farblose Kristalle.



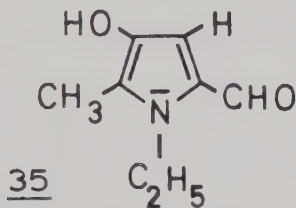
Ber. C 60.41 H 6.54 N 10.06

Gef. C 60.92 H 6.61 N 9.95

IR-, NMR-, Massenspektrum im theoretischen Teil.

35. 3-Hydroxy-2-methyl-1-äthyl-pyrrolaldehyd-(5)

Die Substanz wurde analog durch Umsetzen von Methylglyoxal mit Äthylammoniumacetat hergestellt. Die Isolierung erfolgte durch präparative gaschromatographische Abtrennung.



Schmp. 139-140° aus Tetrachlorkohlenstoff

Farblose Kristalle.

$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_2$ (153,18)

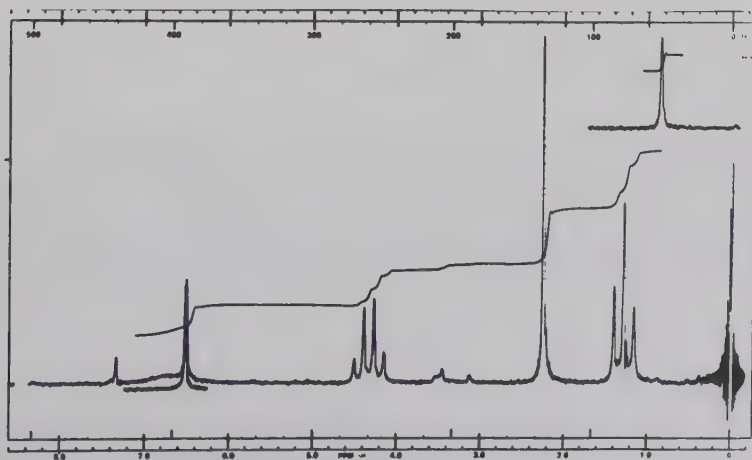
Ber. C 62.72 H 7.24 N 9.14

Gef. C 63.11 H 7.15 N 9.37

IR (KBr): 3400 - 3000 cm^{-1} (OH)

1630 cm^{-1} (CO)

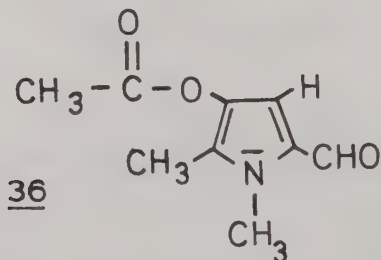
1560 cm^{-1} (evtl. Heteroaromat.)



NMR-Spektrum von 34 in CDCl_3 , TMS als innerer Standard.

Im NMR-Spektrum tritt die 1-Aethylgruppe als Quadruplett und Triplet bei $\tau=5.6$ und $\tau=8.7$ auf. Die Methylgruppe liegt als Singulett bei $\tau=7.8$, das Ringproton und Hydroxylproton bei $\tau=5.5$ (Singulett), das Aldehydproton ebenfalls als Singulett bei $\tau=0.3$.

36. 1,2-Dimethyl-3-acetoxy-pyrrolaldehyd-(5)



40 mg der Substanz 33 werden in 1 ml Acetanhydrid gelöst und über Nacht stehengelassen. Man dampft das überschüssige Anhydrid i/Vak. ab; die Substanz 36 wird i/Hochvak. bei $60^\circ/0.1$ Torr destilliert.

Hellgelbes Öl.

$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$ (181,19)

Ber. C 59.01 H 6.12 N 7.73

Gef. C 58.71 H 6.01 N 7.60

IR- und NMR-Spektrum im theoretischen Teil.

Gaschromatographische Prüfung auf p-Chinon und p-Hydrochinon im Methylglyoxal/Methylammoniumacetat-Umsetzungsprodukt.

Das nach 1a) hergestellte Gemisch wurde im analytischen Gaschromatographen auf die Anwesenheit von p-Chinon und p-Hydrochinon untersucht.

a) Prüfung auf p-Hydrochinon

Gerät: VARIAN AEROGRAPH Modell 2800

Säule: Stahlsäule 8' x 1/8"

5% Carbowax 20 M auf Chromosorb W 80-100 mesh.

Injektortemperatur:		300°
Detektortemperatur:		300°
Säulentemperatur:	Programm	100 - 250° 1°/Min.
Gasdurchfluß:		
He	-	40 ml/Min.
H ₂	-	35 ml/Min.
Luft	-	120 ml/Min.
Einspritzmenge:		1 µl
Flammenionisationsdetektor:		
Range	-	10 ⁻¹¹
Attenuator	-	32
Retentionszeit von p-Hydrochinon:		125 Min.

Im Umsetzungsgemisch tritt unter diesen Bedingungen bei der Retentionszeit von 125 Min. kein Peak auf.

Die Retentionszeit des Peaks der Substanz 33 beträgt 120 Min. Verwendet wurde als Vergleichslösung eine 1-proz. Lösung von p-Hydrochinon in Aceton. Bei einer Vergleichslösung mit einer Konzentration von 1 °/oo ist der Peak noch erkennbar. Die Nachweisgrenze liegt damit unter 1 °/oo.

b) Prüfung auf p-Chinon

Gerät: VARIAN AEROGRAPH Modell 1520

Säule: Stahlsäule 5' x 1/8"

5% Ethofat 60/25 auf Chromosorb W 80-100 mesh

Injektortemperatur: 200°

Detektortemperatur: 200°

Säulentemperatur: Programm 45 - 140° 2°/Min.

Gasdurchfluß:

He - 40 ml/Min.

He₂ - 35 ml/Min.

Luft - 120 ml/Min.

Einspritzmenge: 1 µl

Flammenionisationsdetektor:

Attenuator: 1

Range: 1

Schreiber: Modell Honeywell Vorschub 460 mm/h

Retentionszeit p-Chinon: 12 Min. 10 sec

Vergleichslösung: 1% p-Chinon in Aceton.

Bei einer Vergleichslösung von 1 °/oo-Konzentration ist der Peak noch erkennbar. Die Nachweisgrenze liegt damit unter 1 °/oo. Unter den genannten Bedingungen findet sich bei der Retentionszeit 12 Min. 10 sec. kein Peak. Nach Zugabe von p-Chinon zum Reaktionsgemisch tritt an dieser Stelle ein neuer Peak auf.

II. Umsetzungen von 2.3-Butandion mit Methylammoniumacetat.

a) Umsetzung mit Methylammoniumacetat.

0.5 Mol 2.3-Butandion^{*)} werden in 250 ml Wasser gelöst. Man fügt 0.5 Mol Methylammoniumacetat hinzu und erhitzt 30 Min. am Rückflußkühler zum Sieden. Nach dem Erkalten wird 3 Stdn. im Flüssig/Flüssig-Extraktor mit 1 l Methylenchlorid extrahiert, der schwarzbraune Extrakt wird i/Vak. eingedampft (Ausbeute ca. 25g). Anschließend destilliert man im Hochvakuum bei 120°/0.1 Torr eine Stunde. Destillatausbeute 10g, hellgelbes Öl.

b) Auftrennung im analytischen Gaschromatographen.

Gerät: VARIAN AEROGRAPH Modell 1520

Säule: Stahlsäule 8' x 1/8"

5% Carbowax 20 M auf Chromosorb W 80/100 mesh.

Injektortemperatur: 300°

Detektortemperatur: 300°

Säulentemperatur: Programm 100-250° 4°/Min.

Gasdurchfluß:

He - 40 ml/Min.

He₂ - 30 ml/Min.

Luft - 120 ml/Min.

Einspritzmenge: 1 µl

Flammenionisationsdetektor:

Attenuator: 2

Range: 10

^{*)} Hersteller: Fa. Schuchardt, München. Reinheit: 99% (GC)

Schreiber: Modell HONEYWELL Vorschub 460 mm/Std.

Retentionszeiten: (unkorr.)

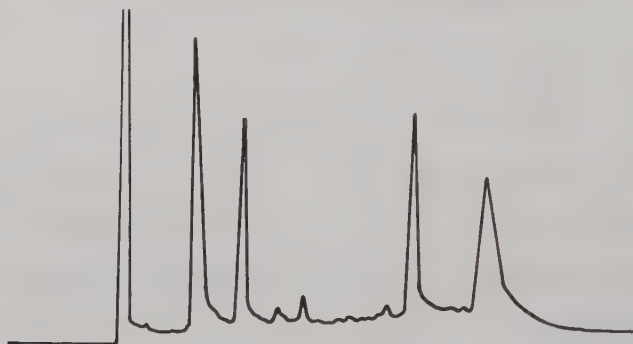
Essigsäure 7 Min. 3 sec.

Essigsäuremethyamid 9 Min. 35 sec.

4-Methylamino-2.5-
dimethyl-phenol 19 Min.

p-Xylohydroxychinon 32 Min.

c) Auftrennung im präparativen Gaschromatographen:



Präparatives Gaschromatogramm der flüchtigen Anteile des Um-
setzungsgemisches aus 2.3-Butandion/Methylammoniumacetat.

Gerät: PERKIN ELMER Modell F 21

Säule: Stahlsäule 4500 mm x 9 mm

20% Carbowax 20 M auf Kieselgur "MERCK" 60-80 mesh

Injektortemperatur: 250°

Detektortemperatur: 250°

Säulentemperatur: Programm 80 - 250° 3°/Min.

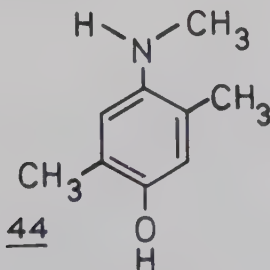
Gasdurchfluß:

N₂ - 500 ml/Min.

Strömungsteilung 1:10

H ₂	-	30 ml/Min.
Luft	-	350 ml/Min.
Einspritzzeit:		15 sec.
Einspritzkapillare:		0.5 mm Ø
Schreiber:	Modell SIEMENS	Vorschub 120 mm/h
Flammenionisationsdetektor:		
Empfindlichkeit:		2
Abschwächung		4
Retentionszeiten: (unkorr.)		
Essigsäure:		19 Min.
Essigsäuremethamid:		28 Min.
4-Methylamino-2.5-dimethyl-phenol		62 Min.
p-Xylohydrochinon		78 Min.

44. 4-Methylamino-2.5-dimethyl-phenol



Farblose Kristalle Schmp. 136° aus Chloroform

Lit.⁷⁵⁾: 137-139°

IR (KBr):

3500 - 2800 cm^{-1} (OH), 2950 cm^{-1} (NH)

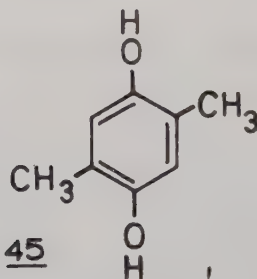
1540, 1480, 1430 cm^{-1}

NMR (in CD_3OD):

s: $\tau = 3.4$ (1H) und $\tau = 3.6$ (1H)

s: $\tau = 7.3$ (3H) und $\tau = 8.8$ (3H) $\tau = 9.0$ (3H)

45. p-Xylohydrochinon



Farblose Kristalle, Schmp. 208° , aus Chloroform
Lit. ⁷⁸⁾: 211° .

Die Identifizierung der Substanz erfolgte über den Mischschmelzpunkt und Vergleich der IR-Spektren mit einer nach Literaturangaben hergestellten Verbindung.

d) Prüfung des 2.3-Butandion/Methylammoniumacetat-Umsetzungs-
gemisches auf p-Xylochinon.

Gerät: VARIAN AEROGRAPH Modell 1520

Säule: Stahlsäule 5' x 1/8"

5% Ethofat 60/25 auf Chromosorb W 80/100 mesh

Injektortemperatur: 200°

Detektortemperatur 200°

Säulentemperatur: Programm 45 - 140° $2^\circ/\text{Min.}$

Gasdurchfluß:

He - 40 ml/Min.

He₂ - 35 ml/Min.

Luft - 120 ml/Min.

Einspritzmenge: 1 µl

Flammenionisationsdetektor:

Attenuator: 1

Range: 1

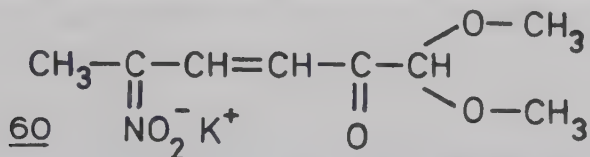
Schreiber: Modell HONEYWELL Vorschub 460 mm/h

Retentionszeit p-Xylochinon: 16 Min. 15 sec.

Unter diesen Bedingungen findet sich bei der Retentionszeit von p-Xylochinon kein Peak. Durch Zugabe von p-Xylochinon tritt an dieser Stelle ein neuer Peak auf. Die untere Nachweisgrenze liegt bei 1⁰/oo.

III. Versuche zur Synthese niedermolekularer Methylglyoxal-Kondensationsprodukte.

60. Kaliumsalz des 1.1-Dimethoxy-5-(aci-nitro)-hexen-(3)-on-(2)

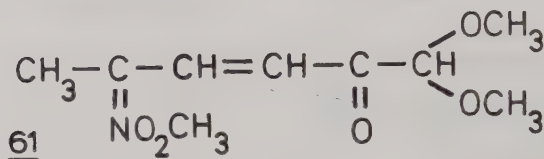


0.65 g 2-Nitro-1. dimethylamino-propen werden mit 0.6g Methylglyoxal-Dimethylacetal in 3 ml Aethanol gelöst. Man gibt 0.2g Kalium in 3 ml Aethanol heiß dazu. Es wird 5. Min. zum Sieden erhitzt, 10 Min. stehen gelassen und anschließend im Eis/Kochsalzgemisch zur Kristallisation gebracht. Die Kristalle werden abgesaugt, mit Aceton gründlich gewaschen und aus Aethanol/Isopropanol umkristallisiert.

Rote Kristalle, Rohausbeute 45%. Schmp. 218-220⁰(Zers.)

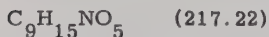
Aus den IR- und NMR-Spektren (im theoretischen Teil) ergibt sich eindeutig die Struktur.

61. 1.1-Dimethoxy-5-(O-methyl-aci-nitro)-hexen-(3)-on-(2)



1g 60 löst man in 40 ml Wasser. Nach Zugabe von 1.5g Natriumhydrogencarbonat und 2g Dimethylsulfat wird 2 Stdn. bei Raumtemperatur gerührt. Man gibt erneut 1.5g Natriumbicarbonat und 2g Dimethylsulfat hinzu und rührt weitere 6 Stdn. Es wird mit Methylenchlorid extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel zieht man i/Vak. ab.

Hellgelbes Öl, Rohausbeute 80%.

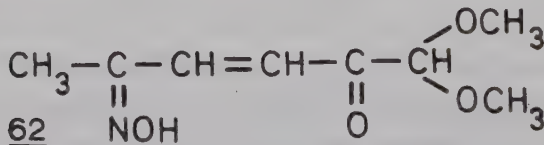


Ber. C 47.76 H 6.96 N 6.45

Gef. C 49.8 H 6.01 N 7.01

Die Elementaranalyse ergibt nur angenäherte Werte, das Öl konnte jedoch nicht unzersetzt destilliert werden. (Abspaltung von Formaldehyd). Die Struktur wird durch das IR- und insbesondere NMR-Spektrum eindeutig belegt.

62. 1.1-Dimethoxy-5-oximino-hexen-(3)-on-(2)



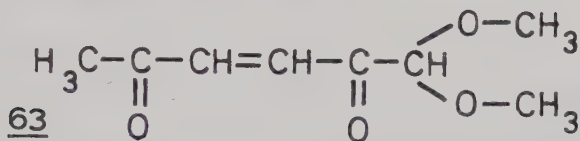
0.5g 61 erhitzt man eine Stunde in Aethanol zum Sieden, anschließend wird das Lösungsmittel i/Vak. entfernt. Die Reinigung erfolgt dann an präparativen Kieselgelplatten "MERCK" Nr. F 254, Schichtdicke 2 mm.

Laufmittel: Chloroform/Aethanol (95 + 5). Die Zone mit $R_f = 0.5$ wird eluiert, die Substanz ist unter dem UV-Licht durch Fluoreszenzlösung sichtbar.

Hellgelbes Öl Ausbeute 55%

Die Struktur ergibt sich aus dem IR- und NMR-Spektrum (im theoretischen Teil).

63. 1.1-Dimethoxy-hexen-(3)-dion-(2.5)



0.2g 62 wird 30 Min. in n/10 HCl erhitzt. Man extrahiert mit Methylchlorid und trocknet über Natriumsulfat. Am Rotationsverdampfer wird das Lösungsmittel entfernt. Das erhaltene Öl kann durch Destillation im Hochvakuum bei $50^{\circ}/0.1$ Torr gereinigt werden. Die Reinigung gelingt auch an Kieselgelplatten "MERCK" Nr. F 254. Laufmittel: Chloroform/Methanol (95+5). Die unter dem UV-Licht oberste sichtbare Zone wird eluiert.

Hellgelbes Öl Ausbeute 30%

$C_8H_{12}O_4$ (172.18)

Ber. C 55.81 H 7.02 N 8.13

Gef. C 54.95 H 6.81 N 8.45

IR- und NMR-Spektrum im theoretischen Teil.

Für die Aufnahme der Spektren fanden folgende Geräte Verwendung:

VARIAN T 60 NMR-Spektrophotometer

PERKIN-Elmer 257 Grating Infrared Spectrophotometer

PERKIN-Elmer 137 UV Ultraviolett - Visible-Spectrophotometer

VARIAN Ch 7 Mass-Spectrometer

Lebenslauf
=====

Thomas Wieland

geboren am 30.4.44 in Schopfheim/Baden
als Sohn des Apothekers Dr. Ernst Wieland
und seiner Ehefrau Erika, geb. Steiner,
Apothekerin

Schulen

1950 - 1954 Volksschule in Schopfheim
1954 - 1957 Schule Schloß Salem
1957 - 1964 Gymnasium Schopfheim

Reifeprüfung:

März 1964

Pharmazeut.

Praktikum:

April 1964 bis März 1966
in der Stadt-Apotheke Radolfzell
und der Hirsch-Apotheke Lörrach

Pharmazeut. Studium:

SS 1966 Universität Basel
WS 1966/67 bis WS 1968/69
Universität Tübingen

Pharmazeut. Kandi-

datenzeit:

April 1969 - Oktober 1969
in der See-Apotheke Titisee

Seit Oktober 1969 arbeite ich unter Anleitung von Prof. Dr. Th. Severin
am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität Mün-
chen an der vorliegenden Arbeit.

